S3™/ S3e™ セルソーター
取扱説明書

カタログ番号　145-1001J1　145-1002J1
145-1003J1　145-1004J1
145-1005J1　145-1006J1
145-1008J1
145-1078

・製品をご使用になる前に、本取扱説明書をよくお読みください。
・本書の注意事項は必ずお守りください。
・本取扱説明書は、必要な時にすぐに取り出して読めるように大切に保管してください。

注　意

BIO-RAD

バイオ・ラッド テックコール
製品の学術的お問い合わせ並びに修理・メンテナンスに関するお問い合わせは弊社テックコールにお問い合わせください。
受付時間：月曜日～金曜日（祝祭日を除く）
AM9:00～PM5:00 （日本標準時：JST）
電話: 03-6404-0331
Fax: 03-6404-0334
Email: life_ps_jp@bio-rad.com
以下の Web でオンラインでのテクニカルサポート並びに製品情報等をごをご参照ください頂けます。
Web：www.bio-rad.com.

Trademarks and Legal Notices
Adobe、Acrobat は、Adobe Systems Incorporated（アドビシステムズ社）の商標です。
Microsoft®、Windows®、Windows® XP 、Windows® 7、Windows® 8は、米国 Microsoft Corporationの米国及びその他の国における登録商標または商標です。Microsoft Word、Microsoft Excel、Microsoft Power Pointは、米国Microsoft Corporationの米国およびその他の国における登録商標または商標です。Microsoft .NET® Framework並びにSQL Serverは米国 Microsoft Corporation の米国およびその他の国における登録商標または商標です。
HEPAはHEPA Corporationの登録商標です。InstapakはSealed Air Corporationの登録商標です。
その他、 本マニュアルに記載の社名および商品名は、 各社の商標または登録商標です。

本書では下記のように省略して記載している場合がございます。ご了承ください。
- Windows XP の正式名称は、Microsoft® Windows® XP Operating Systemです。
- Windows 7 の正式名称は、Microsoft® Windows® 7 Operating Systemです。
- Wordの正式名称は、Microsoft® Word®です。
- Excelの正式名称は、Microsoft® Excel®です。
- PowerPointの正式名称は、Microsoft® PowerPoint®です。

Copyright
Copyright©2013 Bio-Rad Laboratories, Inc. 本書の内容は、印刷または電子形態などのいかなる形式によっても、バイオ・ラッド・ラボラトリー株式会社の書面による許可なしに複製することを禁じます。
マニュアルの内容は予告なしに変更されることがあります。また、本マニュアルに誤記や不正確な記述があった場合、バイオ・ラッドラボラトリーズはいかなる責任も負いません。

S3™/ S3e™セルソーター
取扱説明書
Ver. 1.2.0.7761

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズの情報サービス

弊社では科学研究者を対象として多くの資料等情報をご提供しております。以下に示すウェブサイトでは実験に有益な情報を提供しております。

- Life Science Research web site　　http://www.bio-rad.com

このウェブサイトでは、技術的な情報、取扱説明書、製品情報、技術サポートなどの情報へアクセスして頂けます。
さらに、製品に関連する実験手法と多様なアプリケーションに関する技術情報もご提供しています。
表 1 に、弊社が提供する情報サービスと情報の入手方法を示します。

表 1 バイオ・ラッド社の技術情報サービス

リソース	問い合わせ方法
各地域での弊社営業所	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)から住んでいる国を選択して、地域の情報を確認します。または本取扱説明書巻末のリストから、最寄りの営業所を探してください。
技術参考資料や文献	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)にアクセスしてください。検索ボックスにキーワードを入力し、ドキュメント(Documents)を選択して技術情報、取扱説明書、その他の必要な参考資料へのリンクを表示します。
技術専門要員(テックコール)	弊社では、高品質の技術サポート体制を整えています。また、技術サポート部門に経験豊富なスタッフを配置しており、お客様のお問い合わせに対応して、実践的で専門的な解決方法をご提供いたします。 技術サポートをご希望の場合は、弊社テックコールへご連絡ください。テックコールの連絡先は本書「バイオ・ラッド　テックコール」の項目をごをご参照ください。

この取扱説明書について

本書は S3 及び S3e セルソーターを安全に設置し、操作する方法をご案内するものです。該当する情報を速やかに提供するため、本書では下表に記載された表記法が使われています。

表 2 本取扱説明書に使用される専用表記。

表記	説明
参考情報:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで有益となる情報や取扱方法などが記載されます。
注意:	本書でさらに詳しい説明を加える場合などで重要となる情報が記載されます。
警告！	使用者への傷害、機器への傷害、データ消失の原因などに関連した事項であり、重大な情報が記載されます。
X 項目＞Y 項目	ツールバー、メニューまたはソフトウェアウインドウからX項目を選択し、次にY項目を選択することを示します。
	画面内の重要情報をハイライト表示
	重要！　必要なアクション又は一般的に起こるミスについての重要情報

本書および製品で使用される安全使用の表示マークについては、iv ページの「製品を安全性ご使用いただくために」ををご参照くださいしてください。

保証

本製品とその付属品における不具合については 1 年間保証いたします。保証期間中に本体あるいは付属品に不具合が発見された場合、不具合のある部品の修理を無償にて行います。ただし、消耗品は保証対象外となります。

下記の場合は保証対象外となります。

1. 適切でない使用方法による故障
2. 弊社あるいは弊社が認定した者以外が、修理あるいは改造を行った場合
3. 指定以外の部品を使用したために起きた故障
4. 弊社以外から供給された部品等を使用した場合
5. 事故あるいは間違った使用方法によって生じた故障
6. 天災による故障
7. サンプルなどによって生じた腐蝕

保証期間内であっても、再度の納品検収、移動設置、製品点検については有償となります。保証期間外でも修理によって機能が維持できる場合には有償にて修理を承ります。

修理の依頼およびお問い合わせは、機器のモデル名とシリアルナンバーを添えてお近くの弊社営業所あるいは弊社販売代理店までお願いいたします。

この機器の使用目的に合わない状態での使用や、弊社あるいは弊社指定の者以外による改造によって怪我あるいは災害にあわれた場合、弊社では一切の責任を負いません。
保証内容の詳細については、製品付属の製品保証書をごをご参照ください。

保証登録

保証サービスをお受けいただく際には登録が必要になります。必ず保証書に必要事項を記入の上、弊社へ FAX 頂くか以下のウェブサイトからご登録をお願いいたします。

http://warranty-registration.bio-rad.co.jp/registration.htm

製品保証書は修理時などに必要になりますので、大切に保管してください。

修理依頼について

修理をご依頼される際には修理品と一緒に不具合詳細を記載する「修理依頼書」と運搬者や作業者の安全を確保するための「デコンタミネーション確認のお願い」をコピーして、ご記入の上、弊社もしくは弊社販売代理店へご連絡ください。。両書類は本書 Appendix5 および 6 に掲載されています。

製品を安全にご使用いただくために

はじめに

バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社　ライフサイエンス事業部が販売している製品はすべて研究用途を目的として販売しております。医療用・医療診断機器ではありません。研究用途以外は使用しないでください。

製品の仕様・外観は改良のため予告なしに変更されることがありますので、予めご了承願います。

安全確保のための警告表示

本書の「**警告!**」表示は、感電の危険性といった傷害または損害の原因について警告するものです。

警告ラベル

機器に貼り付けてある警告ラベル、及び、本書に含まれている警告ラベルは人身事故とその他の危険についての警告を示している。警告ラベルの意味については表 3 をごをご参照ください。

表 3　警告ラベルの意味

	注意:感電！記載されている指示事項を守らない場合は、人身事故又は致死事故の危険があります。
	注意:危険リスク！不正に扱った場合に人身事故又は機器の物損事故の原因となるコンポーネントを示している。本シンボルが現れたら、先に進む前にマニュアルに記載されている詳しい情報を確認してください。
	注意:レーザーの危険！記載されている指示事項を守らない場合は、レーザー照射による人身事故又は致死事故の危険があります。
	注意:生物学的危険！生物学的危険物質により汚染される可能性のあるコンポーネントを示しています。

計測機器の警告ラベル

計測機器には表 4 に示す警告ラベルが貼られています。これらの警告ラベルは S3 セルソーターの安全に直接関わるラベルです。

表 4　計測機器に貼られている警告ラベル

	感電に対する警告 感電の危険があるため、電子機器のメンテナンス作業については資格を持った訓練を受けた者以外が行ってはならない。
	電子機器についての警告 電子機器は静電気に弱く、放電による破壊が起こりうる。
	重量物に対する警告 3 人以上で持ち上げること。機器のベース部分に取り付けられているハンドル部分を持つこと。水平を維持してゆっくり動かすこと。
	生物学的危険物質の取扱に関する警告 生物学的に危険なサンプル又は S3 システムの廃棄タンクを扱う時は、本書に示している安全対策とガイドラインに従う他、適用される地元の安全ルールとガイドラインも遵守しなければなりません。

安全にご使用頂くための注意事項

警告！S3 及び S3e セルソーターや他のアクセサリーの外側ケースを取り外そうとしたり修理しようとしたりしないでください。本装置の外部ケースを開けると、感電によって負傷したり、装置が損傷したりする危険性があります。

本装置をご使用の際には安全のため、表 5 もしくは表 6 の動作環境条件を順守してご使用ください。

表 5 S3 及び S3e セルソーターシステムを安全にご使用いただくための動作環境条件

入力交流相数	単相 2 線
入力交流電源	90～115V（+15%,−10%)、1.2 A
入力交流周波数	50～60 Hz ±5%
設置場所	屋内使用のみ
使用温度	18～25° C （±2℃以内で安定であること）
使用最大相対湿度	20～70% （但し、結露がないこと）
使用高度	<1,000 m

表 6 S3 BioSafety システム Class I を安全にご使用いただくための動作環境条件

入力交流相数	単相 2 線
入力交流電源	90～115V（+15%,−10%)、1.2 A
入力交流周波数	50～60 Hz ±5%
設置場所	屋内使用のみ
使用温度	18～25° C （±2℃以内で安定であること）
使用最大相対湿度	20～60% （但し、結露がないこと）
使用高度	<1,000 m

注意:本ユニットを水がかかる可能性のある場所に保管したり、使用したりしないでください。感電の原因となることがあります。

安全規格への順守

レーザー製品の危険分類

レーザー製品の危険分類はレーザーによるユーザーへの危険の程度を分類するもので、危険の程度に応じた安全対策を定めるものです。S3 及び S3e レーザーは 21 CFR 1040.10 及び 1040.11 に適合するクラス 1 のレーザー製品です。但し、レーザー照射時、メンテナンス作業時及び修理時においてオペレータに有害レベルの照射が起こらない場合に認められるレーザー通告 No. 50(2007 年 6 月 24 日)に適用しています。訓練を受けたエンジニアが修理又は大きなメンテナンス作業を行う時には、クラス 3B のレーザーに対する安全管理を適用しなければなりません。

警告！ 本書に示す以外の制御手段、調整手段又は手順を使用した場合、危険レベルのレーザー照射に晒される恐れがあります。

電気的危険の安全情報と分類

S3 及び S3e システムは高電圧に関する国際基準を満たしています。本書に示している全ての保護ハウジング、インターロック及びシールドを必ず使用してください。電気の安全についての詳しいことは、各ハードウェアの説明をごをご参照ください。

AC ヒューズの要件

ヒューズを交換する時は必ず電源コードを抜いて行ってください。
ヒューズは 5x20 ㎜、AC250V、4A、スローブロー仕様のものを使用してください。銘柄：Schurter 0034.3123 等。

AC 電源コード要件

AC 電源コードは IEC 60320-1 適合品とし、計器端側 C13 プラグ付とする。定格は AC250V 以上、10A@60℃以上とする。但し、米国及びカナダでは AC125V 以上、10A@60℃以上とする。本機器は電源スイッチと電源コードへのアクセスが容易な位置に設置すること。

適用法規

S3 及び S3e セルソーターシステムは下記の安全法規及び電磁気関係法規を満足できることを試験で確認済です。

- IEC 61010-1-2010(第 3 版)、EN 61010-1-2010(第 3 版)、計測/制御/実験用電気機器-Part 1：一般要件
- UL/CSA 61010-1-2012(第 3 版)、安全用電気機器の電気的安全要件(米国、カナダ、NRTL)
- IEC 60825-1-2007(第 2 版)、EN 60825-1-2007(第 2 版)、レーザー製品の安全-Part 1：機器の分類と要件
- クラス 1 レーザー製品の CDRH 要件と規則
- IEC 61010-2-081.2001+A1、EN 61010-2-081.2002+A1、計測/制御/実験用電気機器の安全要件、Part 2-081：分析及びその他の目的に使用する自動又は半自動実験機器の要件(アタッチメント 1 を含む)
- EN 61326-1-2006(クラス A)、計測/制御/実験用電気機器の EMC 要件、Part 1：一般要件

S3 及び S3e セルソーターシステムは無線周波数エネルギーを発生し、使用し、そして、放射することができ、そして、本マニュアルの指示通りに設置又は使用しなかった場合には無線通信を妨害する可能性がある。本機器を居住区域で使用した場合において無線通信が妨害された場合、それを回避するための工事はユーザーが自身の費用負担で行わなければなりません。

S3 BioSafety システム Class Ⅰ は下記の安全法規及び電磁気関係法規を順守することを試験で確認済です。

- IEC 61010-1-2010(第 3 版)、EN 61010-1-2010(第 3 版)、計測/制御/実験用電気機器-Part 1：一般要件
- UL/CSA 61010-1-2012(第 3 版)、安全用電気機器の電気的安全要件(米国、カナダ、NRTL)
- EN 61326-1-2006(クラス A)、計測/制御/実験用電気機器の EMC 要件、Part 1：一般要件

S3 及び S3e セルソーターシステムは S3 BioSafety システム Class Ⅰ 内で動作し、テストの結果上記の該当するすべての基準に準拠することが確認されています。クラス 1 レーザー製品の CDRH 要件については S3 及び S3e セルソーターシステムの項目ををご参照くださいしてください。

危険
S3 及び S3e セルソーターは、製造者が定めた方法で使用した場合には安全に動作するように設計されています。S3 及び S3e セルソーター又は関連機器がそれ以外の方法で使用された場合、もしくは、バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社または正規代理店以外による改造が加えられた場合には、保証が無効になるので注意すること。S3 及び S3e セルソーターシステム並びに S3 BioSafety システムの保守・修理は必ず、バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社に実施を依頼すること。

生物学的危険
S3 及び S3e セルソーターは実験研究用の製品であるが、その場合でも、生物学的に危険なサンプルを使用する場合は、次項以下のガイドラインに従う他、関係法規を順守しなければなりません。

一般的注意事項

- 研究用手袋、白衣、及び、サイドシールド付の安全メガネ又はゴーグルを使用のこと。
- 口、鼻及び目に手を近づけないこと。
- 感染の可能性のある材料を扱う時は、事前に傷口や擦過傷部分を完全に保護しておくこと。
- 感染性の物質扱った後は、実験室を出る前に石鹸水で完全に手を洗うこと。
- 実験テーブルでの作業の時は、事前に腕時計と宝飾品を外しておくこと。
- 感染物質及び感染の危険のある物質は、壊れない液密の容器に保管すること。
- 実験室を出る時は、作業衣を脱いでから退出すること。
- 手袋をつけたまま、書いたり、電話をかけたり、照明スイッチを操作したり、あるいは、他の者が手袋をせずに触る可能性のあるその他の物に触れたりしないこと。
- 手袋は頻繁に交換すること。目で見て汚染していることが分かった手袋はすぐに交換すること。
- 除染が難しい材料は感染の危険のある物質に暴露しないこと。
- 生物学的危険のある材料を扱った後は、適当な消毒液(家庭用の漂白剤の 10 倍希釈液等)を使用して作業区画を除染すること。
- 本機器の通常の使用中では、生物学的危険物質が排気されることはない。

S3 BioSafety システムでは上記に追加して以下の点もご注意ください。

- 生物学的サンプルを処理する場合には個人防護具(PPE:Personal Protective Equipment)を使用する必要があります。様々な生物学的安全性レベルでのサンプルを取り扱うために、所属する研究機関のバイオセーフティに関するガイドラインを参照してください。

生物学的危険物質の廃棄

S3 及び S3e システムで使用する廃液タンクには使用したサンプルの種類によっては生物学的危険物質が回収される可能性があります。下記の物質を廃棄する時は研究機関が定めているルール、及び、国及び市町村が定めている関係法規に従って安全に処分しなければなりません。

- 廃液タンクに回収された液体
- 臨床サンプル
- 試薬
- 汚染された可能性のある反応容器やその他の消耗品

S3 BioSafety システムでは生物サンプルを処理する場合には PPE(個人用防護具:Personal Protective Equipment)を使用する必要があります。所属の研究期間のガイドライン等をごをご参照ください。

化学的危険物質
S3 及び S3e システムの廃液タンクには使用したサンプルの種類によっては化学的危険物質が回収される可能性があります。

爆発物質/可燃性物質
S3 及び S3e システムは、バイオ・ラッド社が定めた正しい方法で使用した場合には、火災や爆発時の通常の危険を超えるような危険を招くことはありません。

電気的危険
S3 及び S3e システムは、改造等を加えずに正しく設置し、指定の電源に接続し、そして、正しく使用した場合には、オペレータに電気的危険が及ぶことはありません。

輸送
一旦据え付けた S3 及び S3e システムを移動することは避けてください。移動が必要な時は、先ず、本マニュアルによる除染(デコンタミネーション)を行い、そして、機器内に残っている溶液を除去すること。S3 BioSafety システムが付属している場合には S3 及び S3e を HDPE ベースから移動する前に BioSafety システムを分解する必要があります。S3 及び S3e システムを持上げる時は少なくても三人一組で作業すること。機器を持ち上げる時は機器のベースについているハンドル部分を持ち、機器は水平を維持しながらゆっくり動かすこと。また BioSafety システム付属の場合には HDPE ベースの移動は最低 2 人以上で行って下さい。システムを移設の際にはエアサスペンション装備のトラック等を使用し、極力本体に振動がかからない条件で移動すること。BioSafety システムが付属する場合には、移動後の設置したら、BioSafety システムを組み上げ BioSafety サービスベンダーにより再認定される必要があります。S3 及び S3e システムは QC テストを行い、機器が正常に作動することを確認すること。これら輸送に関してはバイオ・ラッドラボラトリーズ社へ依頼の上、実施することを強く推奨します。

保管
S3 及び S3e システムを保管する時は下記の条件で行ってください。

- 温度　　:5～35℃
- 相対湿度　:20～70%

S3 BioSafety システム Class I を保管する場合には以下の条件で行ってください。

- 温度　　:18～25℃
- 相対湿度　:20～60%

廃棄処分
S3 及び S3e システムには電気部品と電子部品が含まれています。これらの電気部品と電子部品は EU 指令 2002/96/CE(廃棄物及び電子機器)－WEEE 指令により分別回収・廃棄が義務付けられています。廃棄する時は、最寄りのバイオ・ラッド社並びに販売代理店に相談して廃棄ルールをご確認ください。

保証
S3 及び S3e セルソーター及び付属機器には Bio-Rad 社の標準保証条件が適用されます。保証内容の詳細についての詳細は iii ページ保証の項目をごをご参照ください。

目次

バイオ・ラッド ラボラトリーズの情報サービス ii
保証 iii
安全にご使用頂くための注意事項 v
第 1 章－はじめに(Introduction) 1
1.1 システム構成品(System Components) 2
1.2 据付要件(Installation Requirements) 3
第 2 章－ハードウェア(Hardware Description) 4
2.1 システム概要(System Overview) 5
2.1.1 機器背面パネル(Instrument Back Panel) 6
2.1.2 エアロゾル排気ポート(Aerosol Evacuation Port) 6
2.2 流路系(Fluidics System) 7
2.2.1 送液タンク(Bulk Fluidics) 7
2.2.2 ローディングステージ(Loading Stage) 8
2.2.3 ノズル(Nozzle) 10
2.2.4 ソートチャンバー(Sort Collection Chamber) 10
2.3 光学系(Optics) 11
2.3.1 レーザー（Laser:Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation/励起誘導放射による光増幅） 11
2.3.2 ビーム整形光学系(BSO: Beam Shaping Optics) 12
2.3.3 レーザー照射点(Interrogation) 12
2.3.4 光の検出(Light Collection) 12
2.3.5 前方散乱（FSC:Forward Scatter） 12
2.3.6 光学フィルター（Optical Filter） 12
2.3.7 光電子増倍管(PMT:Photomultiplier Tube) 12
2.3.8 カメラ(Cameras) 12
2.4 データ処理系(Electronics) 12
2.4.1 インターロック(Interlocks) 13
2.4.2 プリアンプ(Pre-Amplifier) 13
2.4.3 AD コンバーター(Analog to Digital Converters) 13
第 3 章－ProSort™ ソフトウェア 14
3.1 メインウィンドウ(Main Software Window) 16
3.1.1 タイトルバー内のボタン(Title Bar Buttons) 17
3.1.2 ファイルメニュー(File Menu) 17
3.1.3 Home タブツールバー(Home Tab Toolbar) 18
3.1.4 Setup and Maintenance ツールバー(Setup and Maintenance Tab Tool bar) 20
3.2 コントロール（制御）パネル（Control Panel） 23
3.3 Administrator タブツールバー(Administrator Tab Toolbar) 26
3.3.1 QC テスト判定基準の変更(Editing QC Criteria) 27
3.3.2 液滴の設定変更(Edit Droplets) 29
3.3.3 ストリーム設定の変更(Edit Stream) 30
3.3.4 ユーザーレポート(User Reports) 31
3.3.5 ユーザーの管理(Managing Users) 32
3.3.6 除染（Decontaminate） 33
3.3.7 サンプル圧補正値のキャリブレーション(Calibrate Sample Pressure Offset) 33
3.3.8 初期設定（Global Preference） 34
第 4 章－スタート （Getting Started） 37
4.1 送液タンクの確認(Checking Bulk Fluidics) 38
4.2 ログイン(Logging In) 39
4.3 日常のスタートアップ(Daily Startup) 39
4.4 品質管理（QC：Quality Control） 41
4.4.1 液滴設定(Droplet Setup) 42
4.4.2 サイドストリーム(Side Strems) 43
4.4.3 光軸調整（Alignment） 44
4.4.4 ドロップディレイ計算（Drop Delay Determination） 44

4.4.5 ドロップディレイの維持(Drop Delay Maintenance) 45
4.4.6 ドロップディレイの再計算（Recalculate Drop Delay） 46
4.4.7 QC 判定基準(QC Criteria) 46
4.4.8 QC レポート（QC Report） 46
4.5 プロトコールとワークスペース(Protocols and Workspace) 47
4.5.1 プロトコールを開く(Opening Protocols) 48
4.5.2 機器設定の読み込み（Loading Instrument Settings） 48
4.5.3 プロトコールを保存する(Saving Protocols) 49
4.5.4 複数のプロトコールを表示する(Multiplaying Multiple Protocols) 49
4.5.5 FCS ファイルを開く(Opening FCS Files) 49
4.5.6 FCS ファイルの保存(Saving FCS Files) 49
4.5.7 部分的な FCS ファイルの保存(Saving Partial FCS Flies) 50
4.5.8 ヒストグラムとデンシティープロット(Histograms and Density Plots) 50
4.5.9 プロットのリサイズ、移動、削除(Resizing, Moving, and Deleting Plots) 50
4.5.10 パラメーターの変更(Changing Parameters) 51
4.5.11 統計データを見る(Viewing Statistics) 51
4.5.12 統計データを編集/再表示する(Editing and Reordering Statistics) 52
4.5.13 領域(Region)を作る(Creating Regions) 52
4.5.14 ゲート(Gate)を作る(Creating Gates) 54
第 5 章－分析(Acquisition) 55
5.1 分析作業のセットアップ(Acquisition Setup) 56
5.1.1 イベントレート設定値(Target Event Rate) 57
5.1.2 イベントリミット(Event Limit) 57
5.1.3 サイクルモード(Cycle Mode) 57
5.1.4 トリガー(Trigger) 57
5.1.5 閾値(Threshold) 58
5.1.6 PMT 電圧(PMT Voltages) 58
5.1.7 自動保存(Auto Save) 58
5.1.8 一時停止と再開(Pausing and Resuming) 59
5.1.9 停止と保存(Stopping and Saving) 59
5.1.10 バックフラッシングと洗浄(Backflushing and Washing) 59
5.2 コンペンセーション(Compensation) 59
5.2.1 自動コンペンセーションウィザード(Auto Compensation Wizard) 60
5.2.2 手動コンペンセーション(Manual Compensation) 62
5.3 送液タンクの確認又は交換(Checking or Swapping Fluidics) 63
5.3.1 ホットスワップ(Hot Swap) 63
5.4 光学フィルター(Optical Filter) 65
5.4.1 標準フィルターコンフィギュレーション(Standard Filter Configuration) 65
5.4.2 光学フィルターブロック(Optical Filter Blocks) 66
第 6 章－ソーティング(Sorting) 67
6.1 セットアップ(Sort Setup) 68
6.1.1 ソートコレクション（Sort Collection） 69
6.1.2 容量モニター（Volume Tracker） 70
6.1.3 ソートの領域設定(Setting Regions to Sort) 70
6.1.4 ソートロジックとコレクションチューブ（Sort Logic and Collection Vessel） 71
6.2 ソートモード(Sort Mode) 72
6.3 統計データ(Sort Statistics) 72
6.4 ソートプロット(Sort Plots) 73
第 7 章－その他のソフトウェア機能 74
7.1 脱泡(Debubble) 75
7.2 詰り除去(Unclogs) 75
7.3 スワップチップ(Swap Tip) 75
7.4 システム洗浄（Clean System） 75
7.5 機器状態ボックス(Instrument Status Box) 77
7.6 ステータスバー(Status Bar) 77
7.7 印刷(Prining) 77

7.8 品質管理レポート(Quality Control Reports) 78
7.9 ユーザーレポート (User Reports) 78
7.10 BioSafety システム (BioSafety System) 79
第 8 章－シャットダウン(Shutdown) **80**
8.1 一日の終わりのシャットダウン作業(Daily Shutdown) 81
第 9 章－自動スタートアップ(Automatic Startup) **84**
9.1 自動スタートアップの設定(Scheduling an Automatic Startup) 85
9.2 直前の自動スタートアップ予約(Previously Scheduled Automatic Startups) 86
第 10 章－メンテナンス(Maintenance) **87**
10.1 一般的メンテナンス(General Maintenance) 88
10.1.1 日々のメンテナンス(Daily) 88
10.1.2 毎週のメンテナンス(Weekly) 88
10.1.3 毎年のメンテナンス(Yearly) 88
10.2 詰り(Dealing with Clogs) 89
10.2.1 Unclog (Unclog Option in Software) 89
10.2.2 クリーニング溶液をサンプル分析する(Run Sample of Cleaner) 89
10.3 ノズルチップのクリーニング又は交換(Cleaning or Replacing Nozzle Tip) 89
10.4 Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード(Swap Nozzle Tip Wizard) 89
10.4.1 Agilis システムのノズルチップ交換ウィザード (Nozzle Tip Wizard with the Agilis System) 90
10.4.2 Autogimbal システムのノズルチップ交換ウィザード(Nozzle Tip Wizard with AutoGimbal System) . 96
10.5 光学フィルターのクリーニング(Optical Filter Cleaning) 103
10.6 消毒試薬(Disinfectants) 103
10.7 除染(Decontamination) 104
第 11 章－S3 BioSafety システム Class Ⅰ **109**
11.1 はじめに(Introduction) 110
11.1.2 システム構成(System Componets) 111
11.1.3 ハードウェア概要(Hardware Overview) 111
11.1.4 仕様 (Specifications) 113
11.2 操作方法(Operation) 113
11.2.1 エアフローマネージメント (Airflow Management) 113
11.2.2 ソフトウェアによる制御(Software Control) 114
11.2.3 S3 セルソーターと共に使用する。(Working with the S3 Cell Sorter) 116
11.3 S3 BioSafety システムのメンテナンス(Maintenance) 118
11.3.1 洗浄と滅菌(Cleaning and Sterilization) 118
11.3.2 HEPA フィルターの交換(Filter Replacement) 119
11.4 保守サービスと認定(Service and Certification) 119
11.4.1 認定手順(Certification Procedure) 120
11.4.2 手順(Procedure) 120
11.5 S3 Biosafety System Class I Certification Form 122
11.5 S3 Biosafety システム Class I 試験フォーム 123
第 12 章－トラブルシューティング(Troubleshooting) **124**
第 1 3 章－試薬・アッセイキット(Reagents and Assay Kits) **131**
ProLine™ Calibration Beads 132
ProLine™ Universal Calibration Beads 134
ProLine™ Rainbow Beads 136
ProFlow™ 8x シース液 138
ProFlow™ Sort Grade Water 139
ReadiDrop™ Cell Viability Assay 140
VivaFix™ Cell Viability Assay 142
CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit 144
CytoTrack™ Proliferation Assay Kit 146
ReadiLink Antibody Labeling Kit 148
Appendix **150**
Appendix 1: 参考資料(References) 151
Appendix 2: S3 セルソーター仕様 153
Appendix 3: Ordering Information 154

Appendix 4: ProSort ソフトウェア インストール方法 155
Appendix 5: 修理依頼書 156
Appendix 6: デコンタミネーション確認のお願い 157

第 1 章－はじめに(Introduction)

はじめに(Introduction)

S3™ 及び S3e™ セルソーターは経済的で、信頼性が高いシンプルなセルソーターです。S3 及び S3e システムはベンチトップセルソーターとして 1 又は 2 レーザー、4 色以下の蛍光検出器、及び、前方散乱光(FSC)と側方散乱光(SSC)検出器を装備しています。サンプル検出には Jet-in-Air 方式を採用しており、高感度と高純度を維持しながら、高速でソーティング行うことが可能です。

ソーティングは通常、粒子(細胞等)を含んでいるサンプル流がノズルを振動させることで液滴形成し、目的粒子を含む液滴に電荷を加えると、電界によって液滴が偏向してコレクションチューブに導かれ、回収される技術です。液滴を正しく偏向するためには、機器を正しくセットアップして高純度のソート結果が得られるようにすることが重要です。

S3 及び S3e セルソーターは独自の技術により複雑なセットアップ作業を自動化することで、より効率的で一貫性のあるワークフローを提供することが可能となりました。

主な自動化機能:

- 自動セットアップと自動シャットダウン
- レーザー光軸調整
- ドロップディレイ計算
- 液滴モニタリングとフィードバック
- サイトストリーム調整
- 毎日の QC レポート/トレンドプロット作成
- オーバーフロー防止のためのコレクション量モニタリング

S3 及び S3e セルソーターには送液システムと温度制御システムが標準で内蔵されています。S3 及び S3e セルソーターは脱イオン(DI)水による 8x シース液の希釈用として独自設計のシースボトルを内蔵しており、これによりソーティング中もシステムを停止せずにシース液等の交換を行うことが可能となっています。このホットスワップと呼ばれる交換方法の開発により、中断なく連続的にソーティングを行うことが可能です。詳しくはセクション 5.3「送液のチェック又は交換」をごをご参照ください。

1.1 システム構成品(System Components)

S3 及び S3e セルソーターシステムには下記の構成品が梱包されています。

- **S3 または S3e セルソーター**x 1
- **S3 Installation キット** x 1

シース液タンク用キャップ(白) x 1	5ml チューブ:12x75 ㎜ x 1 パック
DI 水タンク用キャップ(青) x 1	S3 コレクションアダプター x 2
廃液タンク用キャップ(赤) x 1	送液タンク用トレイ x 3
S3 送液用空タンク 4L x 3	USB メモリ(ProSort™ ソフトウェア) x 1
S3 フィルターホルダー(黒:ブランク) x 5	S3 セルソーター取扱説明書(英語) x 1
S3 前方散乱光(FSC)フィルターホルダー:ND フィルター付、2.0 x 1	S3 クイックガイド(英語) x 1
S3 フィルターブロック A x 1	USB コード x 1
S3 フィルターブロック B x 1	イーサネットケーブル x 1
	電源コード x 1

■ **S3 及び S3e アクセサリーキット x** 1

100 μ m ノズルチップ x 1	2mm 六角ドライバー x 1
ノズル O-リング x 2	フィルター用スパナ x 1
ノズルアラインメントディスク x 2	プラスチックケース x 1
S3 用 ND フィルター(1.0) x 2	

■ **ミニタワーコンピュータ、24 インチ液晶モニター x** 各 1

■ **ProFlow™8xシース液:**防腐剤無添加、5x4L x 1 箱

■ **ProLine™ キャリブレーションビーズ:**3x5ml x 1 袋

1.2 据付要件(Installation Requirements)

S3 及び S3e システムは正常動作とキャリブーションが確保できるように、訓練を受けたサービスエンジニアが設置する必要があります。梱包品の不足又は損傷が見つかった場合は、最寄りのバイオ・ラッド社営業所にご連絡ください。

据付前に、先ず、場所を決めなければなりません。本機器は丈夫な実験台又はテーブルに載せて設置し、電気機械的妨害を引き起こす振動源となるような他の機器から離して配置する必要があります。実験台又はテーブルは本機器の 90 kgの重量を支えられる強度を有していなければなりません。設置場所には多量の埃や湿気が存在していない場所を選んでください。

表 7 本機器単独又はコンピュータ及びモニター画面を組み合せた時の寸法

機器単独(WxDxH)	70 x 65 x 65 cm
コンピュータ及びモニター画面との組合せ時(WxDxH)	116 x 65 x 65 cm

*メンテナンス用のスペースとして高さ方向に 61 cmのスペースが追加で必要です。

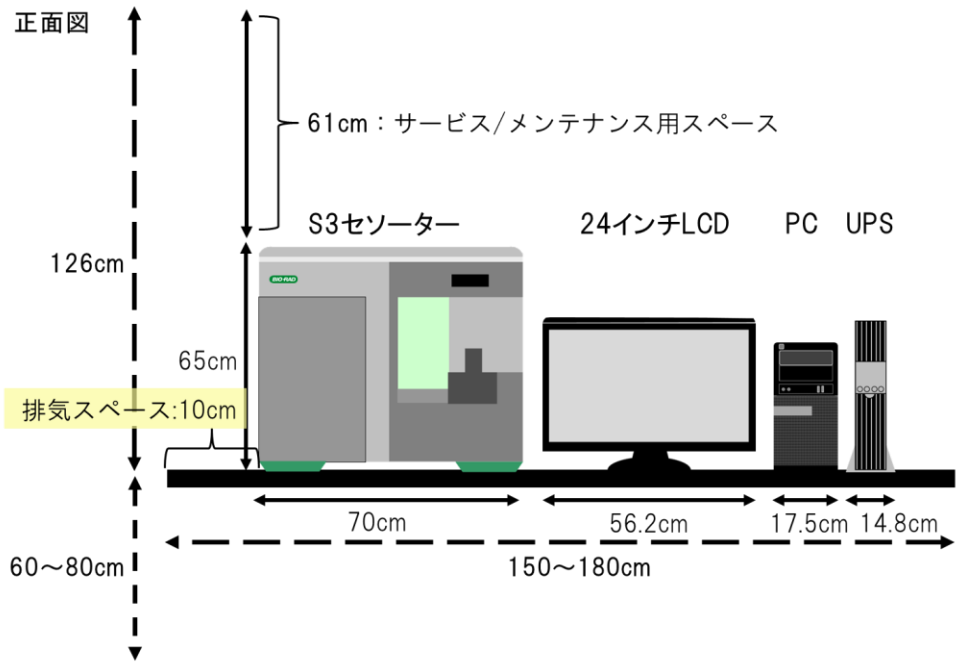


図 1 S3 及び S3e セルソーターシステム設置図(正面図)

第 2 章－ハードウェア(Hardware Description)

2 ハードウェア(Hardware Description)

本章では S3 及び S3e セルソーターシステムのハードウェアを説明します。機器の正しいオペレーションを行うためには、ハードウェアを正しく理解することが重要です。

2.1 システム概要(System Overview)

S3 及び S3e セルソーターシステムは流路系、光学系、データ処理系及びソフトウェアの複数のサブシステムから構成されています(図 2)。

図 2 S3 システム前面図

2.1.1　機器背面パネル(Instrument Back Panel)

S3 及び S3e システムの後部コネクターパネルには下記の機能が配置されています。

- **電源スイッチ(黒):**押すとシステムの電源が入ります。

  警告！ システムをシャットダウンする目的には使用しないでください。システムをシャットダウンする時は ProSort™ ソフトェアのシステムシャットダウン機能を使用してください。詳しくは 8 章「シャットダウン」をご参照ください。

- **電源入力(黒):**電源コードの差込み口、AC100V～240V
- **USB ポート(グレイ):**コンピュータとの接続用
- **イーサネットポート(緑):**コンピュータとの接続用

接続位置/方向はカラーコードで示されています(図 3)。

図 3 機器背面コネクターパネル

注意

機器～コンピュータ間は電源及び通信用として 3 本のケーブルで接続する。機器周辺で作業する時は、ケーブルに足を引っ掛けないように注意すること。

2.1.2　エアロゾル排気ポート(Aerosol Evacuation Port)

S3 及び S3e セルソーターは BioSafety システムに接続した場合に、ソートチャンバーから直接エアロゾルを排気できるエアロゾル排気ポートを備えています（図 4)。本ポートは、使用しない時はカバーを付けておいてください。

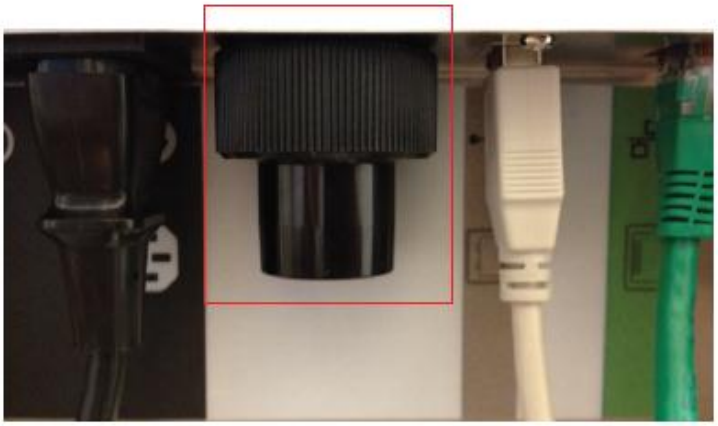


図 4 エアロゾル排出ポート

2.2 流路系(Fluidics System)

S3 及び S3e の流路系は送液タンク、ローディングステージ、ノズル及びソートチャンバーから構成されます。流路系はシース液、DI 水及びサンプルをノズルに供給し、そして、廃液を回収します。

注意!

生物学的危険！ 本機器を使用する場合に一番重要なポイントは生物学的安全性を確保することです。生物学的危険物質の取扱と処分方法については監督機関に相談するか、又は、市町村及び国の関係法規を調べてください。

2.2.1 送液タンク(Bulk Fluidics)

S3 及び S3e システムの流路系には 3 つの空のタンクが含まれています。表 8 に各タンクの機能を示します。

表 8 送液タンクと機能

ラベル	タンク	機能
	生物学的危険物質廃液	ノズルと廃液ラインを通過した後の廃液を貯めるタンクです。赤いキャップの付いた 4L タンクで、一杯になるまで約 9 時間の分析が可能です。ここに回収した溶液は、分析用途とサンプルの種類に応じた最適な方法で除染する必要があります。廃棄処分の方法については安全担当者又は監督機関(安全衛生局)にご相談ください。
	シース液	本容器は 8 倍濃縮(8x)シース液を入れるタンクです。白いキャップの付いた 4L タンクで、シース液は 1xシース液も使用可能です。その場合には、DI 水容器はシース希釈用としては使用せず、単にリンス・クリーニング用としてのみ使用されます。1xシース液を使用する場合は、ソフトウェアの Administrator タブ内の Global Preferences で設定する必要があります。ここの設定は、アドミニストレーター(機器管理者)によってのみ設定可能で、システム全体に適用されます。本タンクは 4L の 8x シース液の場合は約 50 時間分 1xシース液の場合は約 9 時間の分析が可能です。
	脱イオン(DI)水	1xシース液を作る時に 8xシース液に加える脱イオン(DI)水タンクです。青いキャップの付いた 4L タンクであり、8xシース液を使用した場合の使用時間は約 9 時間である。DI 水は毎日の作業終了時に行うクリーニングの目的にも使用できる他、サンプルを交換する時のサンプルプローブのリンスにも使用されます。

注: ProFlow™ 8xシース液は DI 水で希釈され、S3 内蔵ボトルに 1x シース液として調製されます。

各タンクは交換が容易なようにクイックディスコネクター付となっています(図 **5**)。DI 水タンクとシース液タンクはそれぞれコネクターが 1 個ですが、廃液タンクはソーティングチャンバーから廃液を受け入れるためのコネクターと、ローディングステージの洗浄ポートにつながるコネクターの 2 個のコネクターがあります。タンク上部にはクイックディスコネクター用の磁気ホルダーが備えられています。磁気ホルダーはクイックディスコネクターを吸着して上部に保持し、タンクの交換時にクイックディスコネクターがタンクに当たって破損しないようにするためのものです。

図 5 送液タンク:シース液タンクのクイックディスコネクター

シース液と DI 水はタンク内の 0.2μm のフィルターを通して粒子を除去してからシステムに供給するようになっています。タンク液量はソフトウェアによりモニターされています。各タンクの下にはトレイが置かれており、各トレイには測定した重量を分析時間に換算するためのセンサーが付いています。本センサーからの情報は送液タンク交換時にシステムがドライな状態にならないためのカウントダウンにも使用されています。

重要！

送液タンク内のフィルターは定期的に交換する必要があります。フィルターカートリッジの交換作業は毎年の保守契約による訪問サービスの作業項目に含まれています。詳しくは第 10 章ーメンテナンス(Maintenance)をご参照ください。

2.2.2　ローディングステージ(Loading Stage)

ローディングステージはサンプルポートと洗浄ポートの 2 つからなります。サンプルポートはローディングステージの前側に配置されており、5ml:12x75 ㎜チューブに対応しています （図 **6** 左）。

注: サンプル分析にはポリスチレン製(PS:Polystyrene-透明)ではなく細胞付着性が低いポリプロピレン(PP:Polypopylene-不透明)チューブを推奨していますが、これは必須ではありません。

ローディングステージにサンプルをセットして分析をスタートできる状態になったら、ローディングステージを分析位置に移動します（図 **6** 右）。

ローディングステージを分析位置に移動する方法:

1. ローディングステージのハンドルを下へ降ろします。
2. ローディングステージを内側（奥）へ押し入れます。
3. ローディングステージをゆっくり分析位置まで引き上げます。

チューブが分析位置にきたら、自動的にロックがかかります(図 **7**)。サンプルチューブがロックされた後、サンプルポート全体が加圧され、一時的にブースト圧力が加えられてサンプルがノズルまで押し上げられます。ブースト後、ソフトウェアによるデータ分析又はソーティングのボタンが押されるまでの間、サンプルラインは満たされた状態でサンプルの流れは止まっています。

図 6 ローディングステージ:洗浄位置（左）と分析位置（右）

洗浄ポートはローディングステージの後方に配置されていて、アクセスできないようになっています。サンプルローディングポートが外に出ている時（上図:洗浄位置）は、サンプルラインは洗浄ポートに自動的に挿入されています。洗浄ポートはスタートアップ時、シャットダウン時、及び、サンプル交換時に使用します。洗浄ポートによりサンプルラインの内部とサンプルライン外面が洗浄されるので Sample to Sample のキャリーオーバーを減らすことができます。洗浄中及びサンプリング中は、ローディングステージは所定位置でロックされます。

洗浄中、新しいサンプルをサンプルローディングポートにセットすることができます。ローディングステージの状態はタッチロック画面に表示される南京錠のアイコンの状態により確認することができます（図 **7**）。

図 7 タッチロックシステム画面

ローディングステージを分析位置から洗浄位置へ移動する：

1. タッチロック画面を押して南京錠のアイコンを開錠の状態に変更すると、サンプルポートが減圧され、ロックが解除されます。
2. ローディングステージのハンドルを引き下げ、手前に引いて持ち上げます。

警告！ ローディングステージはバネで押し上げられて分析位置又は洗浄位置へ移動するようになっています。分析位置又は洗浄位置まで動かす時、バネ力が強すぎて機器を損傷する恐れがあるので、それを避けるためにハンドルを持ってゆっくり動かすこと。

注：ローディングステージが洗浄位置にある時に再度サンプルラインの洗浄が必要になった場合は、タッチロック画面の南京錠をロックすれば洗浄作業を再度行われます。

サンプルポートとソートチャンバーの温度は ProSort ソフトウェアとペルチェ半導体素子システムを使用して制御されています。設定温度は 4～37℃の範囲で 1℃毎に設定可能です。

サンプルポートではソーティング中に細胞の沈殿を防止するためにサンプルの撹拌を行うことができます。この撹拌作業はチューブをモーターで回すことにより実現しています。サンプルの種類に応じて撹拌速度を高/低/オフの 3 段階に設定することができます。

注：再懸濁した付着性サンプルの場合、凝集防止のため、撹拌速度を「高速」に設定することを推奨します。

重要！ サンプルチューブとノズルの詰りを防止するためにサンプルは分析直前に必ずフィルターにかけることを推奨します。

2.2.3　ノズル(Nozzle)

ノズルは下記を含め、多数の重要なソーティングの制御を行っています。

- 液滴を作るために安定した振動を与える。
- サンプルを流体学的絞込み（Hydrodynamic Focusing）により制御する。
- ノズルから空気を除去する(脱泡:Debubble)。

ノズル（図 8)には上部前面のスライドドアからアクセスすることができます。ノズル先端は 100μm の口径です。これによってシース流がレーザー照射点の中心を通るように制御されます。ノズルチップはクリーニング、又は、ノズルステージから異物を除去するために取り外すことが可能です。

注:安全のためノズルドアを開けると、レーザーが消灯され、サンプル流・シース流が止まります。

重要！

ノズル及びノズルチップの取外し、クリーニング及び交換の方法については 10 章「メンテナンス」をごをご参照ください。ノズルのメンテナンスは Swap Tip ウィザードを使用して行う。

注意！

感電危険！ ノズルドアはインターロックがかかっていて、開けるとサンプル流・シース流が止まるようになっています。インターロックは資格を持ち訓練を受けたバイオ・ラッド担当者以外、無効にすることはできません。

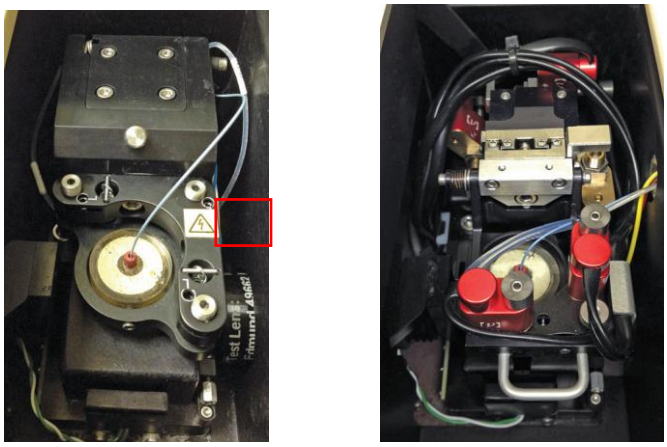


図 8　ノズルステージを収容しているノズルドア内部

左 Agilis システム（S3 セルソーターに標準装備）

右 AutoGimbal システム（S3e セルソーターもしくはアップグレード済み S3 セルソーターに装備）

2.2.4　ソートチャンバー(Sort Collection Chamber)

偏向板はソートチャンバー内に配置されています(図 9)。偏向板に荷電すると、分取する液滴がチューブの方向に偏向されます。偏向板は最適な偏向を可能にするため、クリーンで乾燥した状態に保たれなければなりません。

重要！

偏向板は両方とも定期的にクリーニングすること。詰り又はアラインメント不良によりシース液がプレート上に溜まってしまうと、プレート間にアーク放電が発生します。このアークがシステムによって感知されると、プレートが使用不能状態となり、ソフトウェアがメッセージを表示します。ソーティングを始める前に綿棒でプレートを拭き、余分な水滴を取り除いてください。

サンプルは下記の 4 種類の容器に分取することができます。

・1.5ml チューブ
・8 ウェルストリップ（平底）
・5ml チューブ、12x75mm
・顕微鏡用スライドガラス

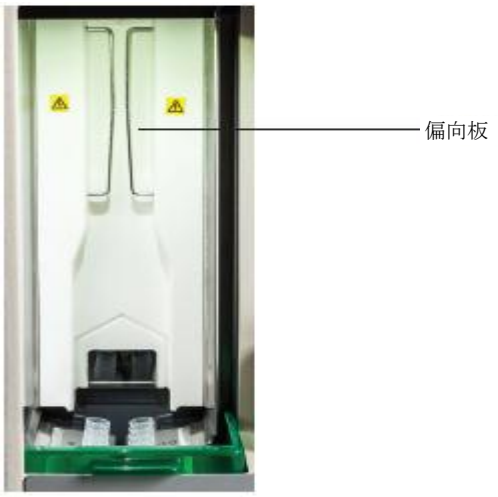


図 9 ソートコレクションチャンバーと偏向板

各コレクション容器のソート位置には番号が付けられ、ソフトウェア内の Sort Logic で設定された Limit 値と位置番号に対応しています。ソートチャンバー内にチューブをセットする場合は、培地又はバッファーをあらかじめチューブに添加して分取した細胞の乾燥を防ぐようにします。また、これらの培地又はバッファーはソート時の緩衝材としての役割も果たします。培地又はバッファーの体積は 5ml のチューブに対して 0.5ml 以上とすることを推奨します。8 ウェルストリップ又はスライドガラスを使用する場合は、アダプターをコレクションチャンバーにセットする必要があります。アダプターはアクセサリーキットに含まれており、保管する時は送液ドアの内側に置いておくことができます。

注意！

生物学的危険！ サンプルを分析して分取する時、サンプルの種類によっては危険な気体（エアロゾル）が発生することがあります。このような危険なエアロゾルが大気中に放出されないように、ソートドア(緑)は可能な限り閉めたままにしておくこと。生物学的に危険なサンプル、分取物及び廃液の取扱方法と廃棄方法については監督機関に相談するか、又は、市町村又は国の関係法規を調べること。

注意！

感電危険！ ソートチャンバー内の偏向板はソーティング中、高電圧が印加されています。ソートチャンバーのドアはインターロックがかかっていて、開けると偏向板への通電が遮断されるようになっています。このインターロックは資格を持ったバイオ・ラッド担当者以外、無効にすることはできません。

2.3 光学系(Optics)

S3 及び S3e セルソーターの光学系はレーザー、ミラー、フィルター及びレンズから構成されており、レーザー光をサンプル流に当てて散乱した光と蛍光を検出します。

注意！

レーザー光の危険！ レーザー光は危険です。光学系のインターロック機構と遮蔽板はユーザーのための安全装置であり、無効な状態にしないこと。訓練を受けた者以外、露出したレーザー光にアクセスしてはなりません。

2.3.1 レーザー（Laser:Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation/励起誘導放射による光増幅）

S3 及び S3e システムはシステム内を通過する細胞及び粒子の分析用として 100mW の 488nm レーザーを内蔵しています。レーザーのパワーとシャッターの制御はソフトウェアを使用して行います。オプションとして用意されている 100mW の 561nm レーザー、または 100mW の 640nm レーザーを第二レーザー光源として使用することができます。

2.3.2 ビーム整形光学系(BSO: Beam Shaping Optics)

ビーム整形光学系(BSO)はレーザー光源とサンプル流のレーザー照射点の間に配置されています。BSO はレーザー光の形状と焦点を調整して細胞に最適なレーザー照射を行います。

2.3.3 レーザー照射点(Interrogation)

レーザー照射点(Interrogation point)はレーザー光とサンプルのコアストリームが交差する点であり、この位置で個々の粒子にレーザー光が照射され、散乱光が発します。サンプルに蛍光団が付けられている場合は、粒子が蛍光を発します。

2.3.4 光の検出(Light Collection)

光は前方と側方の 2 方向から検出します。光は散乱光と蛍光の 2 種類に分類することができ、散乱光は粒子によって散乱するレーザー光の波長です。蛍光はレーザー光による励起後に粒子又は細胞に付いた蛍光団又は色素から発せられる光です。これらの光は励起光よりも波長が長いために光学フィルターを用いて分離・検出することができます。

2.3.5 前方散乱(FSC:Forward Scatter)

粒子の前方向(レーザー光と同じ面内)の光を検出し、その値から粒子サイズを求めることができます。標準設定では散乱光の検出に使われますが、フィルターを交換すれば蛍光の検出も可能です。

2.3.6 光学フィルター(Optical Filter)

光学フィルターは光のスペクトルを各バンドに分解することができるコーティングガラスです。光を各バンドに分解することによって粒子の様々な物性を調べることができるようになります。

重要！

フィルターの取付け/取外し作業を行う時は、手袋を着用してガラス表面に汚れや指紋が付かないようにすること。光学フィルターのクリーニング方法についてはセクション 10.5「光学フィルターのクリーニング」をごをご参照ください。

2.3.7 光電子増倍管(PMT:Photomultiplier Tube)

PMT は粒子からの光信号を検出・増幅する真空管です。PMT は光学フィルターの後方に配置されていて、細胞を標識している蛍光団に基づいて光を検出します。

2.3.8 カメラ(Cameras)

S3 及び S3e システムはシステムの光軸調整等アライメントとキャリブレーション用に3つのカメラを使用しています。これらのカメラの機能は以下の通りです。

注:ユーザーによるカメラの調整は不要です。

- **ピンホールカメラ(Pinhole Carema):**シース流とレーザーを検出光路に合わせます。このカメラはサービスエンジニア以外の者が見ることはできません。
- **液滴カメラ(Droplet Camera):**液滴をキャリブレーションして、ドロップディレイを維持します。液滴の画像は Home タブにある「Droplet Monitor」を使用して見ることができます。
- **ストリームカメラ(Stream Camera):**サイドストリームをキャリブレーションして、サイドストリームとコレクションチューブ間のアラインメントを調整します。本カメラの画像は Home タブの「View Streams」を使用して見ることができます。

2.4 データ処理系(Electronics)

S3 及び S3e システムのデータ処理系は光信号を加工して分析用ソフトウェアに送る機能を果たします。本サブシステムにはこの他に偏向板(ソートチャンバー内)と安全インターロック機能が含まれています。

注意！

感電危険！ 電子機器の修理メンテナンス作業は感電の危険があるので、資格を持った訓練を受けた者以外が行ってはならない。

2.4.1 インターロック(Interlocks)

レーザー光並びに感電の危険を予防のため、S3 及び S3e システムにはセーフティインターロック機能が備わっています(図 **10**)。ソフトウェアの Instrument Control パネル上には、インターロック機能が無効にされた場合にはソフトウェア内のステータスボックスにその状態が表示されます。

注: ノズルドアを開けると、レーザーシャッターが閉じてレーザー光が遮断され、さらに、ドロップドライブとストリームも遮断されます。

重要！

詰まりを取り除く時とノズルチップを交換する時以外、このドアは開けないこと。ドアを開けた後は、QC テストを行ってアラインメントを再調整し、ドロップディレイを再計算する必要があります。

ソートドアのインターロック機能は偏向板電圧をオフにする機能を持っています。本インターロックがサンプルの分析中に働いた場合は、分析・ソーティングは停止します。

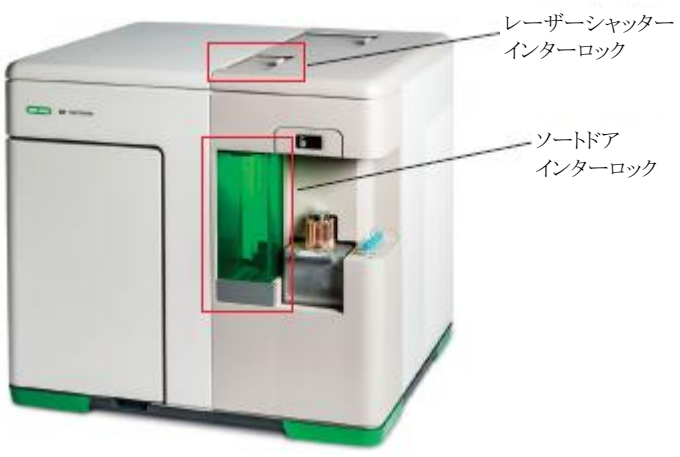


図 10 S3 及び S3e セーフティインターロック

2.4.2 プリアンプ(Pre-Amplifier)

PMT からの信号を増幅します。

2.4.3 AD コンバーター(Analog to Digital Converters)

アナログ-デジタル変換器(ADC)はプリアンプからの電気信号をデジタル信号に変換して、デジタル信号を可視化のためにソフトウェアに送る機能を担います。

第 3 章－ProSort™ ソフトウェア

3 ProSort™ ソフトウェア

本章では ProSort ソフトウェアについて説明します。本ソフトウェアは S3 及び S3e セルソーターシステムのメインユーザーインターフェースであり、システム全体の状態表示と制御機能を提供するものです。

本ソフトウェアをスタートする時はデスクトップの ProSort アイコン(図 11)をダブルクリックします。

図 11 ProSort アイコン

ログインウィンドウ(図 12)が表示されます。このウィンドウは、ユーザーがログアウトして別のユーザーがログインする際にも表示されます。User Name(ユーザー名)と Password(パスワード)を入力してチェックマークボタンをクリックしてログインします。Session Notes 欄にコメントを入力することが可能です。入力したコメントはログインしたユーザー名と一緒に管理目的でユーザーレポートに記録されます。ユーザーレポートは Administrator(管理者)権限でソフトウェアにログインした場合に表示される Administrator タブの Print User Report で表示・印刷が可能です。

注: 自動スタートアップ設定としている場合は、ログイン用のウィンドウとスタートアップ用のウィンドウが別々に表示されます。詳しくは 9 章「自動スタートアップ」をご参照ください。

図 12 ユーザーログインウィンドウ

ProSort は Administrator(管理者:アドミニストレーター)と User(使用者:ユーザー)の 2 種類のモードをサポートしています。Administrator モードには User モードに与えられている管理/アクセス権限に加えて、機器管理用の追加の権限が与えられています。2 つのモードの違いを表 9 に示します。Administrator 権限の詳細についてはセクション 3.3「Administrator タブツールバー」をご参照ください。

表 9　Administrator モードと User モードの使用権限の違い

項目	ツールバーのボタン名称	Administrator	User
スタートアップ	Start-Up	●	●
シャットダウン	Shutdown	●	●
QC テスト実行	Run QC	●	●
QC レポート印刷	QC Report	●	●
QC トレンドレポート印刷	QC Report	●	●
QC 判定基準編集	Edit QC Criteria	●	
液滴画像表示	Droplet Monitor	●	●
液滴設定の表示	Droplet Monitor	●	●
液滴設定の変更	Edit Droplets	●	
ストリームカメラの表示	View Streams	●	●
ストリーム設定	Edit Streams Settings	●	
データ分析	Start Sample Acquisition	●	●
ソーティング	Start Sorting	●	●
分析レポート印刷	Print	●	●
ソートレポート印刷	Print	●	●
ユーザーレポート閲覧/印刷	Print User Report	●	
ユーザーパスワード変更	Change Password	●	●
ユーザー権限変更	Manage Users	●	
ユーザー削除	Manage Users	●	
ユーザー作成(登録)	Manage Users	●	
ユーザー(登録)の変更	Manage Users	●	
ユーザーパスワードリセット	Manage Users	●	

3.1　メインウィンドウ(Main Software Window)

メインウィンドウにはシステム制御とデータ分析に使用するツールが含まれています。管理モードの種類(User 又は Administrator)によっては、表示される機能の種類が異なります。Administrator モードの場合のメインウィンドウを図 13 に示します。

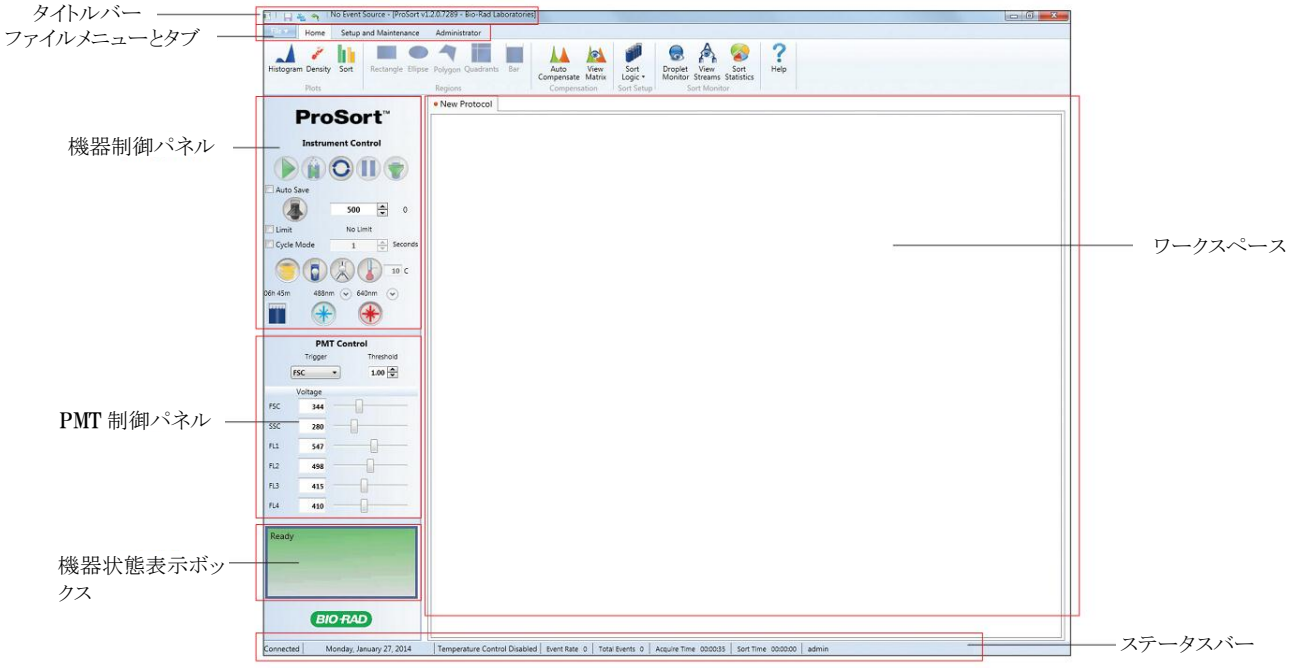


図 13 Administrator モードのメインウィンドウ

3.1.1 タイトルバー内のボタン(Title Bar Buttons)

メインウィンドウのタイトルバーには表 10 に示すボタンが含まれています。

表 10 メインウィンドウのタイトルバーに含まれているボタン

ボタン	コマンド	機能
	Save 保存	サンプル分析後、FCS ファイルを保存します。
	ログアウト/ ユーザー変更	現在ログイン中のユーザーをログアウトして、ソフトウェアをログインウィンドウに戻します。ログアウト前にシャットダウン操作を行わなかった場合は、スタートアップと QC の状態は維持されますが、新たな分析を行う場合は、次のユーザーのログイン操作が必要になります。
	Undo アンドゥ (やり直し)	このボタンを押すと直前の状態に戻すことができます。戻すことができるコマンドの例としては、削除された領域(region)削除されたゲート(gate)削除されたヒストグラム(histogram)もしくはデンシティープロット(density plot)や移動された領域やゲート、新規作成されたプロットやゲート、コンペンセーション調整(compensation)などがあります。

3.1.2 ファイルメニュー(File Menu)

ファイルメニューには表 11 に示す項目が含まれています。

表 11 ファイルメニューに含まれているボタンとその機能

アイコン	コマンド	機能
	New Protocol	ワークスペースに新しいプロトコールを開きます。
	Open Protocol	既存のプロトコールを開きます。同時に FCS ファイルが選ばれます。データ分析に使用するプロトコールはこの FCS ファイルからロードされます。
	Load Instrument Settings	FCS ファイルから Instrument Settings (PMT 電圧設定、コンペンセーション設定、トリガー値、threshold 値, paramete 名称) を読み込みます。
	Save Protocol	現在のプロトコールを保存します。
	Open FCS with Protocol	FCS ファイルを測定時のプロトコールと共に開きます。
	Open FCS Data Only	FCS ファイルデータのみを開きます。
	Save FCS File	現在の FCS ファイルを保存します。
	Save Partial FCS File	分析の最後から指定した数のイベント数にデータを削減して FCS ファイルを保存します。
	Print	印刷ウィンドウを開きます。
	Page Orientation(Portrait)	ページの縦/横方向を切り替えます。
	Preview	印刷プレビューを開きます。
About...	About	ソフトウェア情報(ソフトウェア/ハードウェア/ファームウェアのバージョン番号、製造番号等)を表示させます。
	Recent Protocols	ログインしているユーザーが最近使用したプロトコールのリスト
	Recent FCS Files	ログインしているユーザーが最近使用した FCS ファイルのリスト

3.1.3 Home タブツールバー(Home Tab Toolbar)

Home タブツールバーにはワークスペースで使用する 6 グループの基本機能とソートオプション機能のボタンがあります(図 **14**)。

1. **Plots**:作図機能。(表 12)
2. **Regions**:領域形状。(表 13)
3. **Compensation**:コンペンセーション(蛍光補正)(表 14)
4. **Sort Setup**:コレクションチューブ(容器)とソートロジックの設定。(表 15)
5. **Sort Monitor**:ソートモニタリング。(表 16)
6. **Help**:取扱説明書を PDF で開きます。

図 14 ホームタブツールバー

表 12 作図ボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Histogram ヒストグラム	使用中のワークスペースに新しいヒストグラムを追加します。ヒストグラムをリサイズする時は右下の角の部分をドラッグしてください。
	Density デンシティープロット	使用中のワークスペースに新しいデンシティープロットを追加します。プロットをリサイズする時は右下の角の部分をドラッグしてください。
	Sort ソート	使用中のワークスペースにソートプロットを追加します。ソートプロットは下隅をドラッグすることによりサイズを変更することができます。ソートプロットは各コレクションチューブのソート状況を棒グラフで表示するものです。

表 13 領域ボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Rectangle 矩形	デンシティープロットに矩形領域を追加します。デンシティープロットが開かれていない状態では、本ボタンはグレイ表示になっています。領域は移動、リサイズ、回転及び削除が可能です。
	Ellipse 楕円	デンシティープロットに楕円領域を追加します。デンシティープロットが開かれていない状態では、本ボタンはグレイ表示になっています。領域は移動、リサイズ、回転及び削除が可能です。
	Polygon 多角形	デンシティープロットに多角形領域を追加します。デンシティープロットが開かれていない状態では、本ボタンはグレイ表示になっています。 多角形領域を作る時は、多角形の各頂点の位置を指定して、最後にダブルクリックをして領域を閉じます。領域は移動、リサイズ及び削除が可能です。
	Quadrants 象限	デンシティープロットに象限を追加します。デンシティープロットが開かれていない状態では、本ボタンはグレイ表示になっています。領域は移動、リサイズ及び削除が可能です。
	Bar バー領域	ヒストグラムにバー領域を追加します。ヒストグラムが開かれていない状態では、本ボタンはグレイ表示になっています。領域は移動、リサイズ及び削除が可能です。

表 14 コンペンセーションボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Auto Compensate 自動 コンペンセーション	Automatic Compensation Calculation Wizard ウィンドウを開きます。本ウィザードはコンペンセーションマトリックス係数の計算をサポートする機能です。本機能を使用する時は、事前に単一制御 FCS ファイルを取得・保存しておく必要があります。
	View Matrix コンペンセーション マトリックス	Compensation Matrix ウィンドウを開きます。本ウィンドウではコンペンセーションマトリックスを編集することができます。

表 15 ソート設定ボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Sort Logic ソートロジック	Sort Logic ウィンドウを開きます。本ウィンドウでは、デフォルトとして 5ml チューブが選ばれています。1.5ml チューブ、8 ウェルストリップ又はスライドガラスを選ぶ時は Sort Logic ドロップダウンメニューの矢印をクリックして希望の選択肢を選べます。
	5ml チューブ	コレクション容器として 5ml チューブが選ばれます。ソートモードと限度値は 5ml チューブ毎に、そして、方向毎に指定することができます。
	1.5ml チューブ	コレクション容器として 1.5ml チューブが選ばれます。ソートモードと限度値は 1.5ml チューブ毎に、そして、方向毎に指定することができます。
	8 ウェルストリップ	コレクション容器として 8 ウェルストリップが選ばれます。ソート限度値又はモードは 8 ウェルストリップのウェル毎に指定することができます。
	スライドガラス	コレクション容器としてスライドガラスが選ばれます。ソート限度値又はモードはスライド毎に指定することができます。スライド上の各位置には最大で 500 のイベントを分取することができます。

表 16 ソートモニター及びヘルプボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Droplet Monitor 液滴モニター	Droplet Monitor ウィンドウを開く。QC テスト後は、本ウィンドウで液滴を見ることができます。本ウィンドウには液滴のメンテナンスの状態が表示される他、現在のドロップディレイの設定値とドロップドライブ振幅の設定値も表示されます。
	View Streams (ビューストリーム)	View Stream ウィンドウを開きます。本カメラはコレクション容器の直上位置のソートストリームをモニターしています。
	Sort Statistics (ソート統計データ)	Sort Statistics ウィンドウを開きます。本ウィンドウはソートカウント、ソート%、アボートカウントと%、ソートカウント/秒、ソート%、効率等のデータが表示されます。Sort Statistics ウィンドウはレポートに含めて印刷することができます。本ウィンドウはソートをスタートすると自動的に表示されます。
	Help (ヘルプ)	ユーザーマニュアルの PDF ファイル(英語版)を開きます。

3.1.4 Setup and Maintenance ツールバー(Setup and Maintenance Tab Tool bar)

セットアップ&メンテナンスツールバーは 5 つのセクションから構成されています(図 **15**)。

- **System**:ソフトウェアから機器をスタートアップ/シャットダウンさせます。(表 17)
- **Quality Control (QC)**:QC テストを行う、又は、レビューします。(表 18)
- **Fluidics**:共通の流路系機能にアクセスします。(表 19)
- **Other**:その他ボタンの追加機能。(表 20)
- **Publish**:印刷補助機能。(表 21)、印刷機能の種類、及び、ツールバーに含まれている残りのボタンを示します。

図 15 Setup and Maintenance ツールバー

表 17 システムボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Start-Up (スタートアップ)	シース液等の送液を開始して、レーザーのスイッチを入れ、サンプルラインのバックフラッシングを行ってシステムをスタートさせます。自動スタートの設定としていない場合は、このボタンを使用してスタートさせます。
	Shutdown (シャットダウン)	システムをシャットダウン(停止/終了)させます。本ボタンはローディングステージが洗浄位置にないと使用できません。ボタンを押すとシステムのクリーニングと次回実験のための自動スタートアップ(Automatic Restart)ウィンドウが表示されます。

表 18 品質管理(QC)ボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Run QC (QC テスト)	日常的に QC テストを行うことでシステム性能を最適な状態に維持します。QC テストはサンプルの分析作業を始める前に済ませておく必要があります。QC テストは ProLine™ キャリブレーションビーズの滴下したチューブをサンプルポートにセットして実行することにより、システムが液滴の設定、サイドストリーム設定、イベントレート調整、ノズルアラインメント調整、PMT の CV と電圧を調整・チェックし、ドロップディレイを計算する一連の QC 作業を自動的に実行します。QC テストの進行状況は画面に表示されます。
	Trending (トレンドプロット)	毎回の QC データは Traending にまとめられています。トレンドレポートは CV、PMT 電圧、ドロップディレイ等の一定期間中の傾向を示すプロットです。表示期間はレポート画面上で設定することができます。トレンドレポートは保存/印刷が可能です。
	QC Report (QC レポート)	過去または直前の QC レポートを表示、保存、印刷する時に使用するボタンです。QC レポートには日付、ユーザー、CV/PMT/液滴等の情報が含まれます。

表 19 流路系関係のボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Debubble （脱泡）	ノズルから気泡を除去します。
	Unclog （詰り除去）	ノズルが詰まった時、真空によって異物を除去することができます。超音波洗浄のためにチップを外す時、もしくは、新しいノズルチップに交換する時は、最初に本機能を実行してください。
	Swap Tip （チップ交換）	シースの流れを止めてノズルチップの交換が可能な状態にします。ノズル交換作業用のウィザードが表示されます。チップの交換が済んだら、QC テストを再度実行してアラインメントとドロップディレイの設定を確認してください。
	Swap Fluidics （送液タンク交換）	システムを停止せずにタンクの交換を行います。ボタンを押す前に交換するタンク(満杯又は空)を用意しておいてください。これはボタンを押すと 3 分間のタイマーが作動し始め、この時間内に交換作業を完了しなければならないためです。
	Clean （システム洗浄）	サンプルポートに DI 水、10%ブリーチ、70%EtOH 等をセットして、システムのサンプルラインを洗浄します。洗浄は高圧(High pressure)もしくは低圧（low pressure）で行うことができます。高圧洗浄を行うと液滴は維持されなくなるため、洗浄後にソーティングを行う場合には再度 QC を行う必要があります。サンプル間での洗浄が必要な場合には低圧洗浄(low pressure)を推奨します。

表 20 その他のボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Annotation （注釈）	ワークスペースに注釈ウィンドウを追加します。データの保存ボタンを押す前に注釈を入力しておくと、その注釈は FCS ファイルに埋め込まれたプロトコールに保存されます。
	Image （画像）	画像をワークスペースに追加します。画像は移動と削除が可能です。データの保存ボタンを押す前に画像を入力しておくと、その画像は FCS ファイルに埋め込まれたプロトコールに保存されます。
	Basic Information （基本情報）	印刷ページのヘッダーに基本情報を追加します。基本情報としては日付、時刻、ユーザーログイン情報、連番、ファイル名、イベントソース等が含まれます。データの保存ボタンを押す前に情報を入力しておくと、その情報はFCSファイルに埋め込まれたプロトコールに保存されます。
	Filter Configuration （フィルター設定）	PMT と光学フィルターの設定を示す光学系統のレイアウトを印刷ページに追加することができます。フィルター設定が変更になった場合は、レイアウト図もそれに合わせて変更することができます。データの保存ボタンを押す前に本図を入力しておくと、その情報(図)は FCS ファイルに埋め込まれたプロトコールに保存されます。

表 21 印刷ボタン及びユーザーボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Preview (プレビュー)	印刷前に印刷ページをプレビュー表示します。
	Page Orientation (ページ縦横切替)	ページの縦置き/横置き(景色(横)と肖像(縦))を切り替えます。
	Print (印刷)	プリンターの種類や印刷部数を指定するためのウィンドウを開き、印刷を実行します。 **注:**印刷範囲を確認したい時はプレビュー機能を使用してください。
	Print Option (印刷オプション)	印刷用のページレイアウトにウィンドウや機器設定情報を追加します。
	Change Password (パスワード変更)	現在ログインしているユーザーがパスワードを変更することができます。
	System Log (システムログ)	ユーザーの作業内容を記録したシステムログを開きます。ここには日時、エラーの種類、エラーの詳細情報等が記録されています。トラブル時等、サービスエンジニアと一緒に作業する時に役に立つ情報です。

3.2 コントロール(制御)パネル(Control Panel)

システムの制御とモニタリングはコントロールパネルを使用して行います(図 **16**)。コントロールパネルは下記の 3 つの部分から構成されています。

- **Instrument Control(機器制御)パネル:**分析/ソーティング時の Instrument Control(機器制御)パネル
- **PMT Control(PMT 制御)パネル:**PMT 電圧変更設定、トリガー、閾値設定の制御
- **機器状態ボックス:**機器の状態表示

機器制御ボタンは表 22 に、PMT 制御ボタンは表 23 に示します。

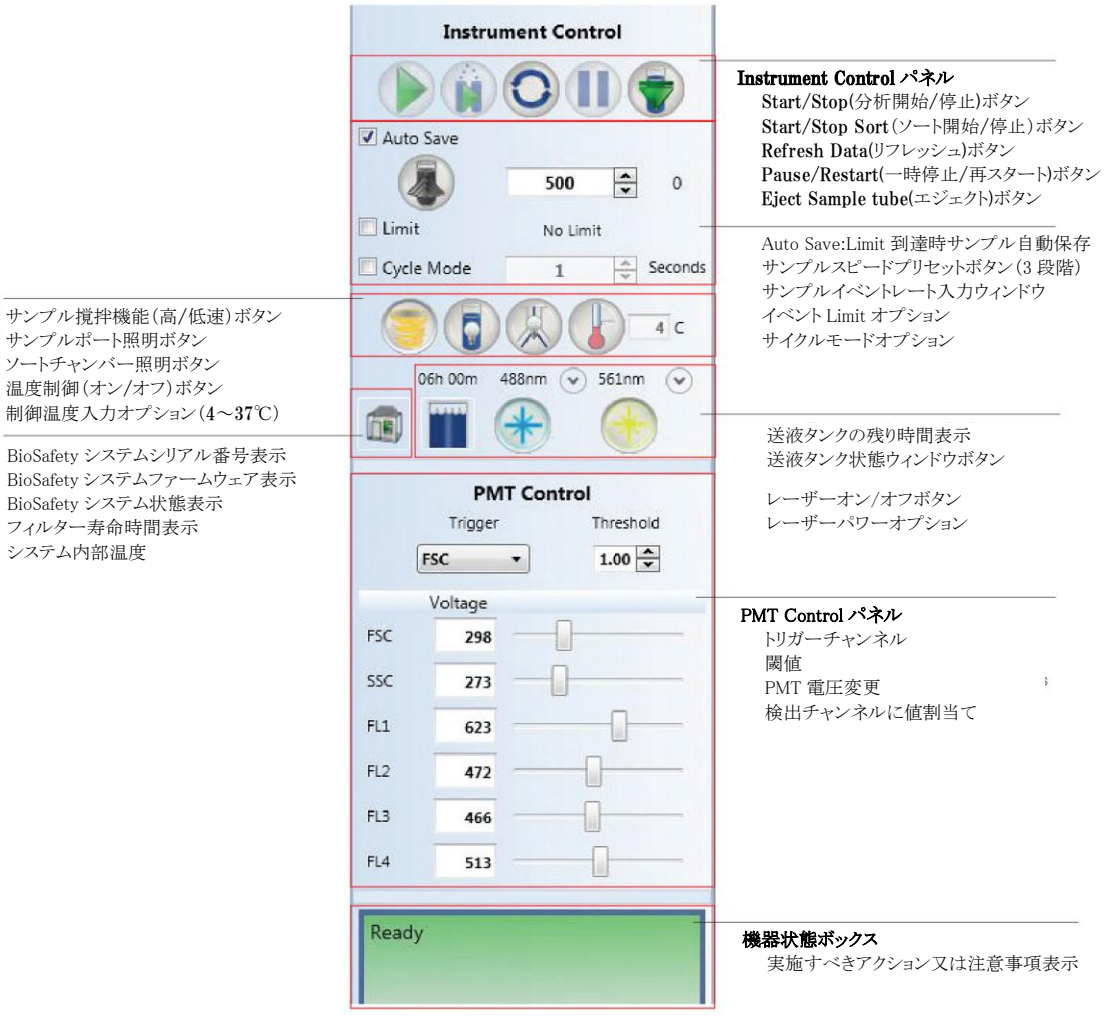


図 16 機器制御及び PMT 制御パネル

表 22 コントロールパネル上ボタンの種類と機能

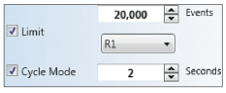
ボタン	名称	機能
	Start Sample Acquisition	サンプル分析を開始します。データファイルがロード・保存済の場合は、データがクリアされて、サンプル分析がスタートします。
	Stop Sample Acquisition	サンプル分析を終了し、サンプル流を止めます。FCS ファイル保存前に、領域、ゲート及び注釈を変更することができる。
	Start Sorting	ソーティングを開始します。データファイルがロード・保存済の場合は、データがクリアされて、そして、ソーティングがスタートする。
	Stop Sorting	ソーティングを終了し、サンプルの流れを止めます。FCS ファイル保存前に、領域、ゲート及び注釈を入力(変更)することができます。
	Clear Acquired Data	分析データをクリアします。プロット及び統計データがリフレッシュされます。
	Pause (一時停止)	サンプル分析とサンプル流を一時停止します。この時点までのデータは Resume コマンドで追加データを取得もしくは、保存することができます。一時停止後に保存を実行すると、Pause ボタンが使用できない状態となります。サンプルチューブを出す場合には、一時停止した後に、タッチロック液晶でロックを解除してから行います。
	Resume Sample (再開)	一時停止後にサンプル分析を再開します。再開すると、一時停止前の FCS ファイルにデータが追加されます。時間ヒストグラムを表示している場合には停止時間がプロットに表示されます。サンプルチューブを一度出した場合には、再開前に戻しておく必要があります。
	Eject Sample Tube	サンプルを減圧してロックを解除します。ローディングステージが洗浄位置に移動できる状態となり、サンプルの取り出しが可能になります。サンプルのロック解除にはタッチロック液晶を使用することもできます。
	Adjust Sample Agitation	サンプル撹拌を開始/停止します。撹拌設定は低速/高速/撹拌なしの 3 段階の設定が可能です。低速に設定する時はボタンを 1 回クリックし、高速に設定する時はボタンを 2 回クリック、撹拌しない場合はボタンを 3 回クリックします。
	Auto Save	分析終了後、保存ウィンドウが自動的に表示されます。
	Target Event Rate	サンプル分析のターゲットイベントレートを入力、又は、サンプルレートをプレセットの低速/中速/高速の設定を変更する時に使用します。
	Limit	指定イベント数に達した時点でデータ分析が自動的に止まります。
	Gate Limit	選択したゲートが指定イベント数に達した時点で分析が停止します。
	Cycle Mode	指定された間隔(秒数)で分析データが自動的にリフレッシュされます。
	Sample Chamber Light	サンプルポートの照明を点灯/消灯します。
	Sort Chamber Light	ソートチャンバーの照明を点灯/消灯して偏向板、ストリーム、及び、コレクションチューブの状態が見えるようにします。
	Temperature Control	サンプルポート及びコレクションチャンバーの温度制御をオン/オフします。
	BioSafety System Status	BioSafety システムの状態を表示して、フィルター寿命に関する情報を表示します。

表 22 コントロールパネル上ボタンの種類と機能(続き)

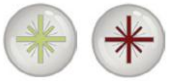
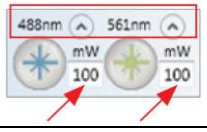
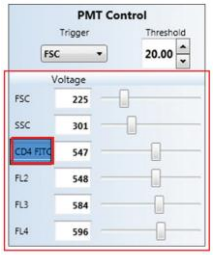
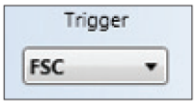
ボタン	名称	機能
	Fluidics System Status (送液タンクの状態)	送液タンクの残り分析時間の情報を表示します。送液タンク残量が 1 時間分まで減ると、状態ウィンドウが自動的に開いて、残り時間の少ないタンクが表示されます。分析可能な時間(残量)が 5 分になった時点で、送液は自動的に停止します。
	Toggle 488nm Laser Shutter	488nm レーザーシャッターを制御します。シャッターは安全のため、インターロックされています。ボタンがグレイの時は、レーザー“オフ”、又は、インターロックのドアが“オープン”のいずれかの状態です。
	Toggle 561nm or 640nm Laser Shutter	561nmもしくは640nmレーザーシャッターを制御します。シャッターは安全のため、インターロックされています。ボタンがグレイの時は、レーザー“オフ”、又は、インターロックのドアが“オープン”のいずれかの状態です。
	Adjust Laser mWatt Power	矢印ボタンをクリックしてドロップダウンメニューからレーザーパワー値を入力し、変更することができます。

表 23 PMT 制御ボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	パラメーター名変更	パラメーター名は任意の名称に変更可能です。変更したパラメーター名は FCS ファイルと一緒に保存されます。変更後のパラメーター名は全てのプロット、コンペンセーション及びフィルター設定に適用されます。
	PMT 電圧	PMT 検出器の電圧をスライドバーもしくはボックスに数値を入力することにより調整する。
	Trigger (パラメーター選択)	閾値を取得するパラメーターを選択できます。デフォルトは FSC(前方散乱光)です。
	Threshold (閾値の変更)	閾値はトリガー信号の%値で規定します。デフォルトは 1.0%ですが、動物細胞では通常 10～20 に設定されます。

3.3 Administrator タブツールバー(Administrator Tab Toolbar)

Administrator タブは Administrator(管理者)専用メニューです。ユーザー権限を変更する時は、セクション 3.3.5「ユーザーの管理」をご参照ください。

Administrator タブのツールバー(図 17)は下記で構成されています。

■ **システムとユーザーの管理**:システム制御機能を設定/変更し、ユーザーを管理します。

表 24 にボタンの種類を示します。

重要！

ここに含まれているいずれの設定を変更しても、システム全体の性能に影響が出ます。これらの設定を変更する時は専門知識を有する者に任せてください。ここでの設定変更はシステム全体に適用されます。

図 17 administrator タブツールバー

表 24 Administrator タブツールバーに含まれているボタンの種類と機能

ボタン	名称	機能
	Edit QC Criteria (QC 基準の変更)	QC テストで評価する CV と PMT 電圧値の判定基準値を設定/変更できます。ビーズロットの変更時には QC テストが再度必要になる場合があります。
	Edit Droplets (液滴設定変更)	液滴形成の設定を変更します。設定項目はドロップドライブの振幅、ドロップドライブ周波数、荷電フェーズ、デファンニング及ドロップディレイです。これらの設定は QC テストの一環として自動的に調整され、その結果はソーティングにも反映されます。システムの使用中は、これらの設定値はグレイ表示となっています。
	Edit Streams Settings (ストリーム設定変更)	ストリームの設定を見る/変更することができます。設定項目は偏向、荷電プレート電圧、デファンニング、フェーズ及びテストパターンがあります。
	Print User Report ユーザーレポート印刷	日時、及び、全ユーザーのシステム稼働期間、Session Note の情報を含むユーザーレポートを見る/印刷することができます。
	Manage Users ユーザー管理	新たなユーザーを登録する、既存ユーザーのパスワードを変更する、権限を変更する、ユーザーを削除することができます。
	Decontaminate (除染)	除染ウィザードを実行できます。送液系統の完全な除染を行います。所要時間は 2～3 時間です。
	Calibrate Sample Pressure Offset	サンプル圧補正値を再キャリブレーションします。
	Global Preferences	シース液濃度、シャットダウン時のアイドル設定、及び、ブースト圧調整等に関する機器初期設定を変更することができます。

3.3.1 QC テスト判定基準の変更(Editing QC Criteria)

アドミニストレーターは QC テストの判定基準を変更する権限があります。但し、この操作を行うのはシステム性能を検証したことがある経験者に限定することを推奨します。QC 基準変更ウィンドウの一番下の中央にある矢印(巻戻し)ボタンを押すと、QC 基準値が工場設定値(デフォルト)に戻されます(図 **20**)。

ProLine キャリブレーションビーズのビーズロットファイル(Bead Lot File)をダウンロードします:

1. バイオラッド社の S3 セルソーターのウェブサイト www.bio-rad.com/cellsorter にアクセスし、ビーズロットファイルをダウンロードします。

   ① S3 セルソーターのページで **Consumables** タブを選択して、使用するキャリブレーションビーズの製品名をクリックします(図 **18**)。詳細は下表をごをご参照ください。

表 25 S3 システムと対応するキャリブレーションビーズ

ご使用のシステム	使用可能な ProLine キャリブレーションビーズ
S3 セルソーター 488nm 2 蛍光検出システム(145-1001J1)	ProLine キャリブレーションビーズ (145-1081)
S3 セルソーター 488/561nm 4 蛍光検出システム (145-1002J1)	ProLine Universal キャリブレーションビーズ (145-1086)
S3 セルソーター 488/640nm 4 蛍光検出システム (145-1004J1)	ProLine Universal キャリブレーションビーズ (145-1086)

図 18 ProLine キャリブレーションビーズのホームページ

② ProLine キャリブレーションビーズの Description タブに記載された Bead Lot File の内、使用するビーズのボトルに記載された Lot のファイルをダウンロードします(図 **19**)。

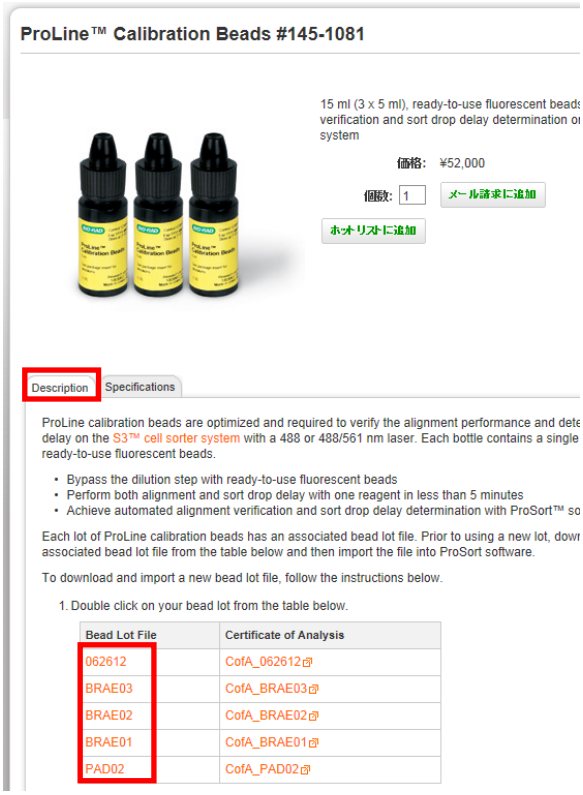


図 19 ホームページからBead Lotファイルのダウンロード

③ Zip ファイルでダウンロードされたファイルを解凍します。解凍されたファイルで拡張子「.pbl」のファイルが Bead Lot File です。

④ S3 に接続されていないコンピューターでダウンロードした場合には USB メモリ等を用いて、S3 のコンピューターにファイルをコピーしてください。

2. 緑の(＋)ボタンを押します(図 **20**)。
3. 新しいビーズロットのファイルを開きます。
4. ファイルを選んで **Open** をクリックします。

新しいビーズのロットの QC 基準が自動的に更新されます。

ビーズのロットの情報を手作業で入力する:

1. 分析証明書に記載されている合否基準を確認します。
2. 古いロットと新しいロットを比較します。
3. 新しいロットの情報を QC 基準変更ウィンドウに入力します。

重要！

ここでの変更はシステム全体に適用されます。

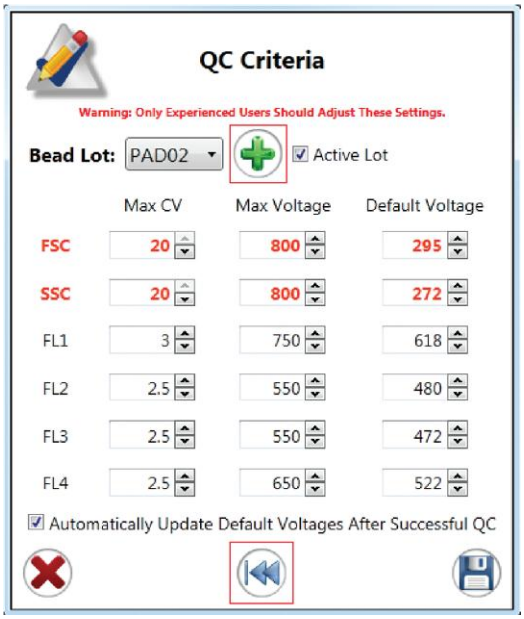


図 20　QC Criteria ウィンドウ：緑の(＋)ボタンと矢印(巻戻し)ボタンがハイライト表示されている

3.3.2　液滴の設定変更(Edit Droplets)

アドミニストレーターはトラブル解決の目的で Edit Droplets ボタンを使用することができます。システム使用中は、ドロップディレイ、ドロップドライブ振幅(Amplitude)、及ドロップドライブ周波数(Frequency)は調整できません(図 **21**)。これらの項目を変更した場合は、分析/ソーティングを再開する前に ProLine キャリブレーションビーズを使用してドロップディレイを再計算する必要があります。画面下のドロップディレイ検証ボタンを使用してスライドガラス上に 3 スポットを分取し、ドロップディレイを顕微鏡下で確認することができます。これらのスポットにはドロップディレイ値 -1、ドロップディレイ値、及ドロップディレイ値 +1 の位置で合計 100 イベントが分取されます。

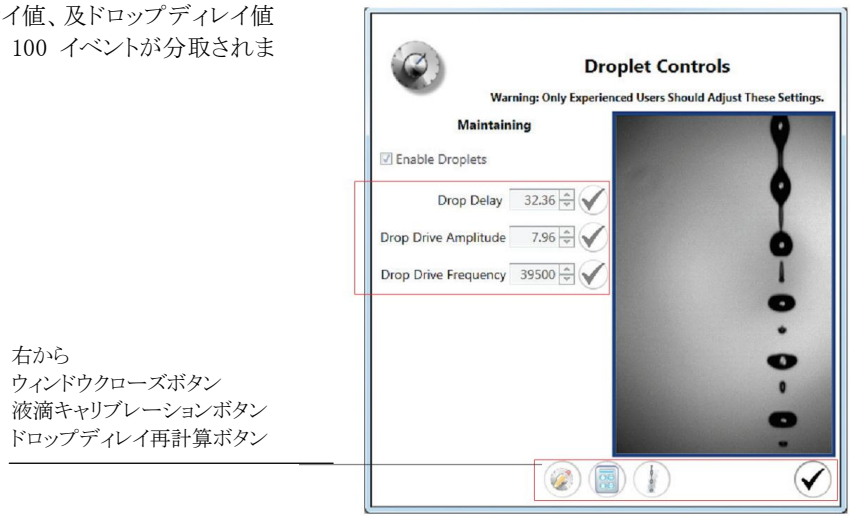


図 21　Droplet Controls ウィンドウ：液滴設定がハイライト表示されている

注意！

QC テスト後、設定値の最適値が自動的に計算されます。これらの値のいずれを変更してもドロップディレイに影響があり、さらに液滴の形成位置にも影響が出ます。

3.3.3 ストリーム設定の変更(Edit Stream)

アドミニストレーターはトラブル解決の目的に Edit Stream ボタンを使用することができます。システムの使用中にストリームの設定変更が可能です。サイドストリームのオン/オフを切り替える時は Enable Test Pattern ボックス(図 **22**)を使用します。

注意！

QC テスト後、サイドストリームの最適値が自動的に計算されます。これらの値のいずれを変更してもサイドストリームとソーティング結果に影響を及びします。

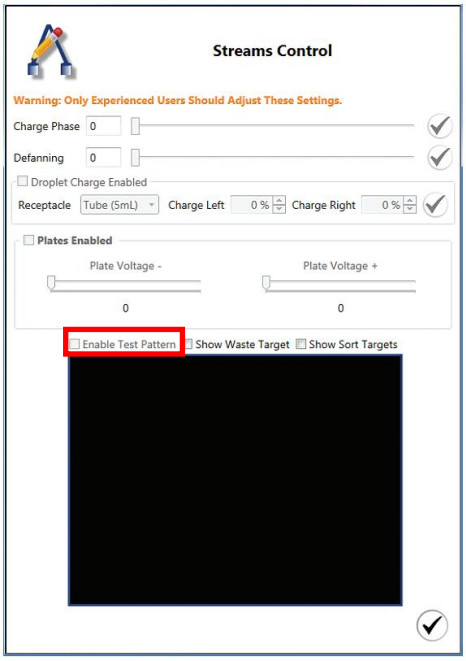


図 22 Stream Control ウィンドウ:Enable Test Pattern ボックスがハイライト表示されている

サイドストリームを確認するには:

1. センターストリーム(中央流束)の位置を確認します。ストリームはストリームレーザーに照射されて明るいスポットとしてウィンドウ上に表示されます。
2. ソーティングをシミュレートするために、「Enable Test Pattern」のチェックボックスにチェックを入れます。サイドストリーム(側流束)よりもセンターストリームの方が明るく確認できます。センターストリームはわずかに広がります。
3. センターストリームが単一流束になっているか確認します。センターストリームが複数の流束に広がっている場合には、調整する必要があります(図 **23**)。
4. ウィンドウ上部の Defanning スライドバーを用いてセンターストリームが可能な限り単一流束になるように調整します。(図 **22**)
5. 調整した設定を保存するため、ウィンドウ右下のチェックマークボタンをクリックしてウィンドウを閉じます。

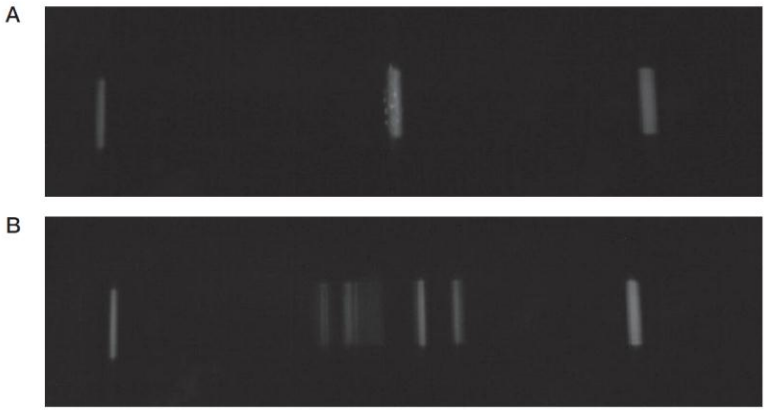


図 23 センターストリームの良い例(A)、センターストリームにばらつきのある悪い例(B)

3.3.4 ユーザーレポート(User Reports)

システム使用状況の分析や共通機器使用時の請求作業のため、ユーザーレポートを閲覧、保存、印刷、エクスポートすることができます。ユーザーの使用状況の情報を表示する時は、期間を選択して、**Update** をクリックします(図 24)。

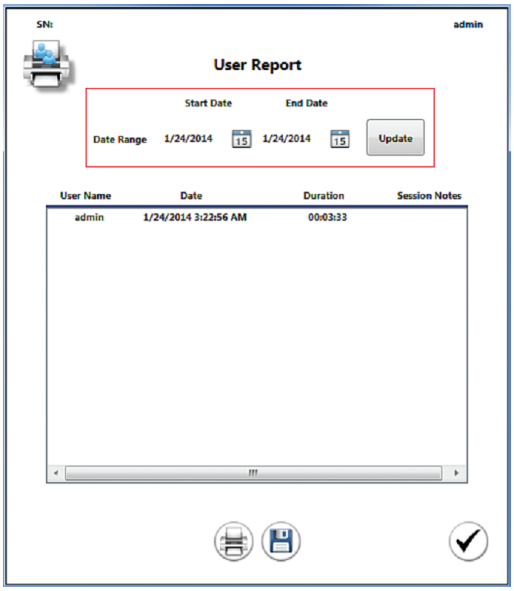


図 24 User Report ウィンドウ

3.3.5 ユーザーの管理(Managing Users)

Manage Users ボタンを押すと Manage Users ウィンドウが表示されます。アドミニストレーターは本ウィンドウを使用してユーザーの追加、削除及び条件変更を行うことができます(**図 25**)。また、この画面でパスワードをリセットすることができます。

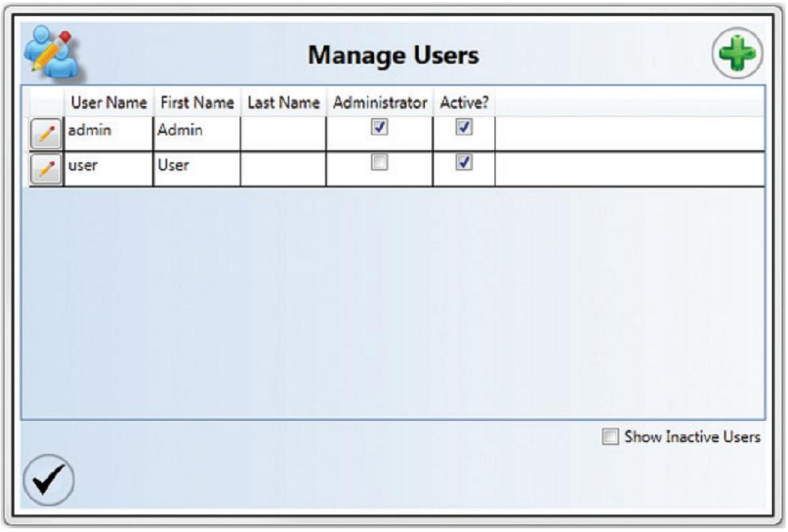


図 25 Manage User ウィンドウ

ユーザー情報を変更する場合:

1. ユーザー名の横の鉛筆形のアイコンをクリックします。
2. Edit User ウィンドウでユーザー情報を編集します(図 **26**)。
3. **Save** をクリックすします。

注:アドミニストレーターがパスワードをなくした、又は忘れた時は、初期設定の Admin パスワードを使用するか、バイオ・ラッド テックコールに電話してください。

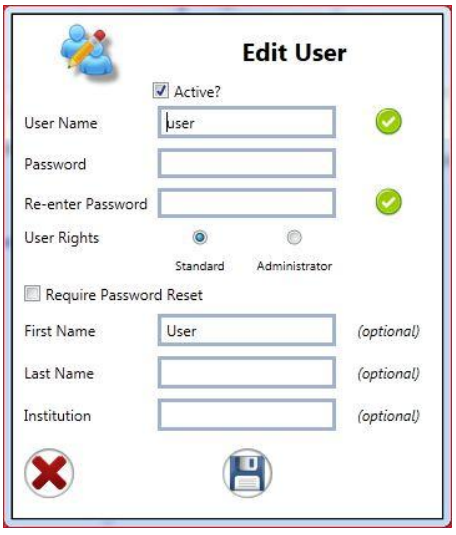


図 26 Edit User ウィンドウ

3.3.6 除染(Decontaminate)

バックグランドが高くなっている場合や DI 水に異物が含まれている場合、又は、汚染が見られる場合にアドミニストレーターは Decontaminate(除染)機能を実行することができます。これにより流路系全体が除染されます。Decontaminate ウィザードについては 10.7「除染(Decontaminate)」をご参照ください。

3.3.7 サンプル圧補正値のキャリブレーション(Calibrate Sample Pressure Offset)

低速設定でキャリブレーションビーズを分析した時にイベントレートが 0 となる場合、又は、イベント数定値+500 となるような場合には、補正値(Offset)を再キャリブレーションする必要があります。本ボタンを使用して補正圧力差を再キャリブレーションすることで、サンプル流量(低/中/高)が正常値に再設定されます。

1. キャリブレーションビーズをサンプルポートにセットし、ローディングステージを分析位置にセットします。
2. Calibrate Sample Pressure Offset をクリックします。

作業を継続するかどうかを尋ねる警告ウィンドウが現れます(図 27)。本キャリブレーションには ProLine キャリブレーションビーズを使用してください。

キャリブレーションは自動的にスタートします(図 28)。システムオフセット圧力のキャリブレーションが行われます。

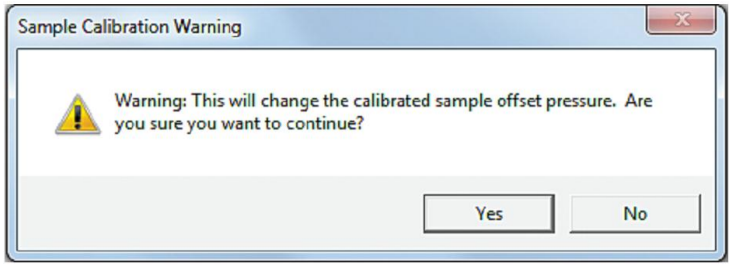


図 27 サンプルキャリブレーション警告ダイアログ

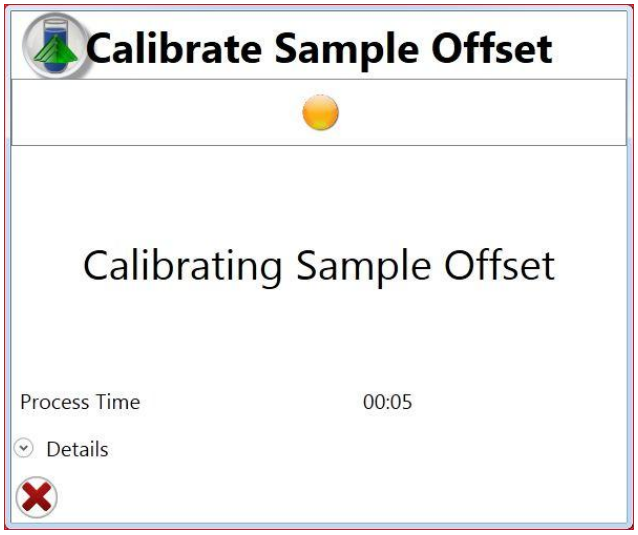


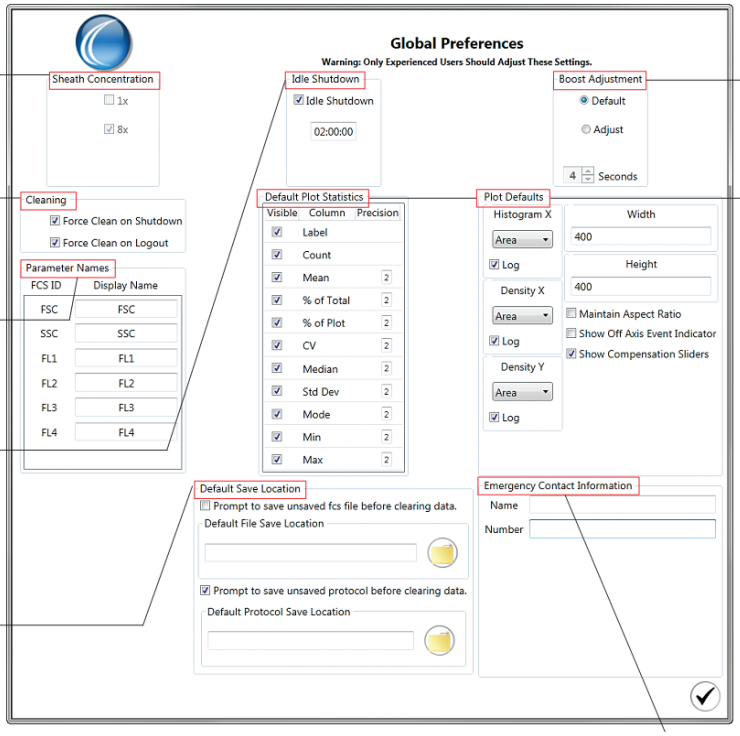
図 28 Calibration Sample Offset ウィンドウ

3.3.8 初期設定(Global Preference)

アドミニストレーターとしての権限を有するユーザーは機器の Global Preference を変更することで機器の設定を変更することができます。具体的にはシステム上で使用するシース液濃度(1x もしくは 8x)の設定、シャットダウン時のアイドル時間タイマー設定、及びブースト時間の各項目です(図 **29**)。

注意！

これらのパラメーターはシステム全体に有効な設定であり、従って、各ユーザーの実験にも影響を及ぼすものである。いずれの値を変更した場合でも機器の最適設定が狂うので、その点に注意しておくこと。



シース液は 8x もしくは 1x を使用することができます。

シャットダウン/ログアウト時にシステムクリーニングを必須設定する

各パラメーター名を蛍光名等に変更する設定ができます。

シャットダウンまでのアイドル時間の設定

■ 保存されていない FCS/プロトコールファイルを保存するように確認するダイアログ表示
■ ファイル保存場所の初期設定

サンプル圧のブースト時間の増減を設定できます。

プロットの初期設定
■ プロット下部に表示される Statistics に表示する項目の選択と表示する小数点以下の桁数の設定
■ プロット軸の初期設定パラメーター
■ プロット表示サイズと縦横比の維持設定
■ コンペンセーション用の Event Indicator 表示有無
■ コンペンセーション用スライダーバー表示の有無

緊急連絡先情報の入力欄

図 29 Global Preferences ウィンドウ

シース液のオプション設定(Sheath Concentration)

8xまたは 1xのシース液を使用することができます。初期標準設定は 8x(8 倍濃縮)です。8xシース液は分析前に自動的に DI 水を用いて 1x に希釈されます。8xシース液をご使用の場合には4L で約 50 時間の分析が可能です。一方、1xシース液の場合は4L で約 9 時間の分析が可能です。

1xシース液を使用する場合は、分析前にシース濃度(Sheath Concentration)値を 1x に変更する必要があります。変更しないと溶液が希釈されてしまいます。

シャットダウン時のアイドル時間の設定(Idle Shutdown)

システムは設定されたアイドル時間経過後に自動的にシステムを停止するように設定することができます。標準のアイドル時間設定は 2 時間です。この設定はレーザー寿命の節約と、夜間の作業時間外の稼働を防止することに役立ちます。

ブースト調整(Boost Adjustment)

ブースト調整は分析開始時にサンプルがレーザー照射点に速やかに到達するように最適な値に設定されています。初期設定値に戻す場合は Default をクリックします。ブースト時間を変更した場合は、分析を再開する前に既知のサンプルを使用してテストを行い、そのブースト時間が最適であること必ずご確認ください。

強制クリーニング(Force Cleaning)

ユーザーがソフトウェアをシャットダウン時もしくはログアウト時に強制的にシステムのクリーニングを実行する設定をすることができます。強制クリーニングはシステムを洗浄しないために発生するもしくはサンプルラインにサンプルが一晩残留することに起因する詰まり などを回避するために役立ちます。

プロット統計値標準設定(Default Plot Statistics)

各プロット下部には Statistics で様々な統計情報を表示することができます。プロットで表示する統計情報の項目や有効数字を定義することができます(表 **26**)。この設定を変更すると次から作成されたプロットには設定された項目が表示されます。

表 26 Default Plot Statistics 項目

項目	内容	設定
Label	ラベル(Total/R1 など)	表示有無
Count	イベント数	表示有無
Mean	平均値	表示有無/有効数字
% of Total	検出されたすべてのイベントに対する割合	表示有無/有効数字
% of Plot	表示されたプロット上のイベントを 100%とした時の割合	表示有無/有効数字
CV	変動係数	表示有無/有効数字
Median	中央値	表示有無/有効数字
Std Dev	標準偏差	表示有無/有効数字
Mode	最頻値	表示有無/有効数字
Min	最小値	表示有無/有効数字
Max	最大値	表示有無/有効数字

プロット初期設定(Plot Defaults)

ここではいくつかの設定を選択することができます。

- デンシティープロット(Density Plot)の X 軸/Y 軸の初期設定パラメーター値を設定することができます。パラメーターは Area(面積値)/Height(高さ)/Width(幅)から選択可能です。また各軸を Linear(線形軸)もしくは Log(対数軸)の2つから選択できます。ここでの設定は標準設定として、新しくデンシティープロットを作成した場合に適応されます。
- ヒストグラム(Histogram)とデンシティープロット(Density)のサイズ(高さと幅)の標準値を設定することができます。初期設定は 400x400 ピクセルです。「Maintain Aspect Ratio」のチェックボックスにチェックを入れることにより設定は有効になります。この設定はヒストグラム・デンシティープロットの両方に適用されます。
- 分析時にイベントが表示されたプロットの範囲内に入っていない場合、三角形のインジケーターが表示されます。通常はこのインジケーターが表示された場合には PMT コントロールパネルで PMT 電圧を調整します。「Show Off Axis Event Idicator」にチェックを入れるとインジケーターが表示されなくなります。
- 自動コンペンセーション(Auto compensation:自動蛍光補正)は統計学的に正しい方法でコンペンセーション用サンプルを用いてコンペンセーションを行う方法です。「Show CompensationSliders」にチェックを入れるとデンシティープロットの X/Y 軸に「Compensate」チェックボックスが表示されるようになります。プロット上でコンペンセーションしたい軸の「Compensate」チェックボックスにチェックを入れるとスライドバーが表示され、コンペンセーションを行うことができます。コンペンセーションバーは正しくコンペンセーションを行うために適切なゲートを設定し、ネガティブコントロールと中央値を一致させる必要があります。

パラメーター名称(Parmeter Names)

パラメーター名称は検出器の各チャンネル(FSC,SSC,FL1,FL2,FL3,FL4)に任意の名称を入力することができます。(蛍光物質名称や CD など)本設定後はすべてのユーザーの初期設定値が変更されたチャンネル名になるので注意してください。

注意:パラメーター名はソフトウェアのメインウィンドウ左側の PMT 制御パネルでも変更することができます。PMT 制御パネルでの設定は新しいプロトコールを開いた時には名称は初期設定値に戻ります。PMT 制御パネル上での名称変更方法については 5.1.6 PMT 電圧をごをご参照ください。

保存場所の初期設定(Default Save Location)

分析が完了した後にソフトウェアは自動保存を行うことができます(Instrument Control(機器制御)パネル>Auto Save チェックボックス)。ここでコンピュータ上の保存場所(ディレクトリー)の標準設定を行うことができます。「Default File Save Location」では FCS ファイルの保存場所、「Default Protocol Save Location」ではプロトコールファイルの保存場所を個別に設定することができます。また保存されてないファイルがあった場合の注意喚起のダイアログ表示の有無も設定することができます。(表 27)

表 27 Default Save Location 設定項目

設定項目	設定内容	設定方法
Prompt to save unsaved fcs file before cleaning data.	システム洗浄前に保存されていない FCS ファイルがある場合に注意喚起のダイアログを表示します。	チェックボックス
Default File Save Location	FCS ファイルの標準保存場所の設定	保存場所を指定
Prompt to save unsaved protocol before cleaning data	システム洗浄前に保存されていないプロトコールファイルがある場合に注意喚起のダイアログを表示します。	チェックボックス
Default Protocol Save Location	プロトコールファイルの標準保存場所の設定をします。	保存場所を指定

緊急連絡先情報(Emergency Contact Information)

緊急連絡先の氏名と電話番号を入力することができます。File メニュー>About で表示されるウィンドウにこの項目で設定された緊急連絡先を表示することができます(図 **30**)。基本的にはシステム管理者の方の氏名・電話番号を入力してください。

図 30 About ウィンドウに表示された緊急連絡先

第 4 章－スタート(Getting Started)

4 スタート(Getting Started)

S3 及び S3e セルソーターシステムは必ずバイオ・ラッド社の正規サービスエンジニアによって設置するようにしてください。設置後、本体背面の電源スイッチによる S3 及び S3e システムのオン/オフは行わないでください。ソフトウェアによりシャットダウン操作を行った場合、S3 及び S3e システムはスタンバイモードとなります。この状態が安全な状態です。スタンバイモードからは迅速且つ自動による再スタートアップが可能です。

電源スイッチを使用して S3 及び S3e システムを停止した場合は、ProSort™ ソフトウェアをスタートする前に機器の電源を入れてください。ソフトウェアと S3 システムが通信するためには機器内部のコンピュータシステムが作動していなければなりません。

重要！

システム電源のオン/オフを不適切な方法で行うと、機器が正常に作動しない可能性があります。

4.1 送液タンクの確認(Checking Bulk Fluidics)

ProSort ソフトウェアを起動する前に、送液タンクのドアを開けて各タンクの残量を確認してください。廃液タンクが空になっていること、そしてシース液と DI 水のタンクが満杯になっていることを確認してください。

注意: ソフトウェアの起動後、又は、分析中に送液タンクを交換する場合は、セクション 5.3「送液タンクの確認又は交換」をご参照ください。

タンクの補給又は交換方法(図 **31**):

1. 金属ボタンを押し、クイックディスコネクターを磁気ホルダーに当たるまで引き上げます。シースタンクキャップからクイックディスコネクターが外れます。
2. タンクを少し持ち上げながら手前に引き出します。
3. タンクのキャップを外します。
4. タンクに補充、又は、別のタンクに交換します。
5. タンクにキャップを取り付け、締めます。慎重に作業すること。
6. タンクを元の位置にセットします。
7. キャップにクイックディスコネクターを取り付けます。カチッという音がするまで差し込みます。

図 31 シース液タンク構成品

重要！

■ シース液と DI 水を扱う時は汚染予防のため、できるだけ空気に触れないようにすること。
■ キャップを新しい容器に付け替える時は、キャップが容器の外表面に当たらないように注意すること。キャップを下に置かなければならない時は、滅菌処理した面の上に置くこと。
■ 安全のため、廃液は全て生物学的危険物質として扱うこと。

4.2 ログイン(Logging In)

S3 及び S3e システムを使用するには ProSort ソフトウェアが必要です。ProSort ソフトウェアはシステム付属のコンピュータにインストール済です。

1. デスクトップ上の ProSort ソフトウェアのアイコンをダブルクリックする(図 **32**)。
2. ProSort ソフトウェアにログインする。

図 32 ProSort ソフトウェアのログインウィンドウ

注: システムが自動スタートアップの設定となっている場合は、ログインウィンドウにスタートアップカウンター(図 **33**)が表示されています。スタートアップ方法のオプションについては 9 章「自動スタートアップ」をごをご参照ください。

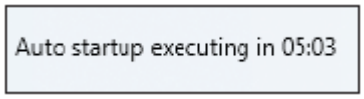


図 33 ログインウィンドウに表示される自動スタートアップのメッセージ

4.3 日常のスタートアップ(Daily Startup)

スタートアップ後 QC テスト又はサンプル分析を始めるまでに約 20 分のウォームアップ時間が必要です。

ウォームアップ手順:

1. ローディングステージを洗浄位置に移動します。
2. Setup and Maintenance タブをクリックします。
3. **Startup** ボタンをクリックします。

Startup ウィンドウが表示されます (図 **34**)。スタートアップボタンを使用してスタートアップを実行する場合、即座にスタートアップさせる場合と、スタートアップを予約する場合の選択が可能です。デフォルトは Startup Now(即座にスタートする)に設定されています。

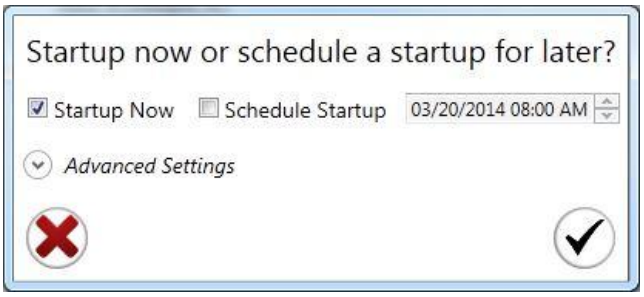


図 34 スタートアップウィンドウ

4. Startup ウィンドウでスタートアップ方法(“Startup Now” or “Schedule Startup”)を選ぶ。
5. チェックマークボックスをクリックして先に進みます。

注: スタートアップ予約(Schedule Startup)の場合は、ソフトウェアはメインウィンドウに戻り、予定した時間になるまでスタートアップは行われません。

スタートアッププロセスの状態は Startup Process ウィンドウに表示されます(図 **35**)。スタートアッププロセスはシステム初期化、ラインへのシース液等の供給、及び、レーザーのウォームアップの各プロセスからなります。

図 35 Startup Process ウィンドウ

スタートアッププロセスでは、ピンホールカメラ・液滴(Droplet)カメラ・ストリームカメラの準備、液滴の維持、及び、ストリーム － レーザー間の光軸アラインメント調整が行われます。

図 36 Startup Process ウィンドウ –ウォームアップ画面

スタートアップ操作が完了するとウィンドウが閉じ、ツールバーのボタンが使用可能な状態となります。

注:S3 システムには自動スタートアップ機能が付いています。シャットダウン時にスタートアップ日時を入力

して予約(タイマー)することができます。本オプションを使用する場合は、その日の作業終了時に廃液タンクが空になっていること、そして、シース液と DI 水のタンクが満杯になっていることを確認すること。

注:ソフトウェアのスタート後、又は、分析中に送液タンクを交換する場合は、セクション 5.3「送液タンクの確認又は交換」(ホットスワップ)をご参照ください。

4.4 品質管理(QC:Quality Control)

システムを最適性能に維持するため、品質管理 (QC)は使用日毎に実行してください。品質管理(QC)プログラムでは ProLine™ キャリブレーションビーズを使用して光軸アラインメント調整、QC チェック、液滴条件の設定、サイドストリーム(側面流束)の調整、ドロップディレイ計算、及び、液滴の維持管理を行います。

注意:S3 及び S3e セルソーター 488/640nm システム(145-1004J1)では**必ず** ProLine Universal キャリブレーションビーズ(カタログ#145-1086)を使用してください。ProLine Universal キャリブレーションビーズは 488nm システム(145-1001J1/145-1003J1)及び 488/561nm システム(145-1002J1)でも使用することができます。

QC テスト手順:

1. ProLine キャリブレーションビーズ(カタログ#145-1081/145-1086)のボトルをボルテックスミキサーなどで 15-20 秒ほどよく混合します。
2. 5ml チューブにビーズを 10 滴(約 0.5ml)以上滴下します。**絶対にビーズを希釈しないこと。**
3. キャリブレーションビーズの入ったチューブをサンプルポートに入れます。
4. ローディングステージを分析位置に移動します。
5. Setup and Maintenance タブの **Run QC** をクリックします。
6. Quality Control Process ウィンドウのプルダウンメニューから使用したキャリブレーションビーズと同じ Bead Lot を選択します(図 **37**)。

図 37 Quality Control Process ウィンドウ

注:使用するビーズロットがドロップダウンメニューに含まれていない場合は、セクション 3.3.1「QC 判定基準の編集」をご参照ください。

QC テスト中は様々なウィンドウが画面に表示され、アラインメント調整とドロップディレイ計算が自動的に実行されていきます。この間、ユーザーによる操作は必要ありません。個々の作業ステップについては本セクション内で後述します。

7. QC 終了後、Drop Delay Process ウィンドウが現れ、ドロップディレイの最適条件が表示されます(図 **38**)。

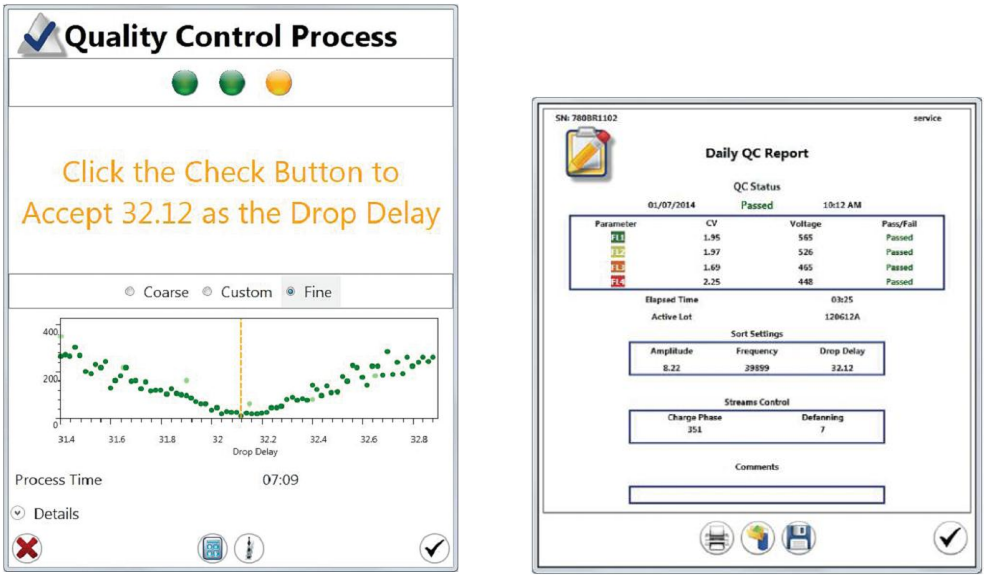


図 38　Drop Delay Alignment Status ウィンドウ(左)と Daily QC Report ウィンドウ(右)

8. Drop Delay Alignment Status ウィンドウ右下のチェックマークをクリックしてウィンドウを閉じると自動的に Daily QC Report ウィンドウが開きます。
9. QC レポートをレビューする。
   - QC テストをパス(Passed)した場合は、QC レポートウィンドウを閉じます。これでサンプル分析とソーティングを行える状態となっています。
   - QC テストに Failed となった場合は、再度 QC テストを行います。QC テストは連続して 3 回まで繰り返すことができます。

4.4.1　液滴設定(Droplet Setup)

QC プロセスで最初に行なわれるのは液滴設定です。液滴設定は自動的に行われ、液滴が安定するように最適に設定されます。液滴のカメラ画像を見る場合には Home タブの **Droplet Monitor** をクリックします。Droplet Monitor ウィンドウが現れてドロップディレイ、ドロップドライブ振幅(amplitude)、及びビーズドロップディレイ状態が表示されます(図 **39**)。

アドミニストレーターとしての権限を有するユーザーの場合、アドミニストレータータブからこれらの設定画面を開いて、設定を変更することができます。詳しくはセクション 3.3「アドミニストレータータブ」をご参照ください。

図 39　Droplet Monitor ウィンドウ

4.4.2　サイドストリーム(Side Strems)

液滴設定後、サイドストリームの位置を調整してファンニング（ストリームが扇状にばらつくこと）が起こらないようにします。ストリームを見る時は Home タブの **View Streams** ボタンをクリックします。View Streams ウィンドウが現れて Charge Phase と Defanning のスライドバーが表示されます(図 **40**)。Charge Phase と Defanning を手動で調整する時は、このスライドバーを使用します。サイドストリームを確認する場合には Enable Test Pattern のチェックボックスにチェックを入れてください。

アドミニストレーターとしての権限を有するユーザーの場合、アドミニストレータータブの Edit Streams Settings にアクセスして、設定を変更することができます。詳しくはセクション 3.3「アドミニストレータータブ」をご参照ください。

注意！ QC テスト後、最適なサイドストリームの設定条件が自動的に計算されます。これらの設定のいずれを変更した場合でも最適な設定が崩れ、サイドストリームとソーティングに影響が出る可能性があります。

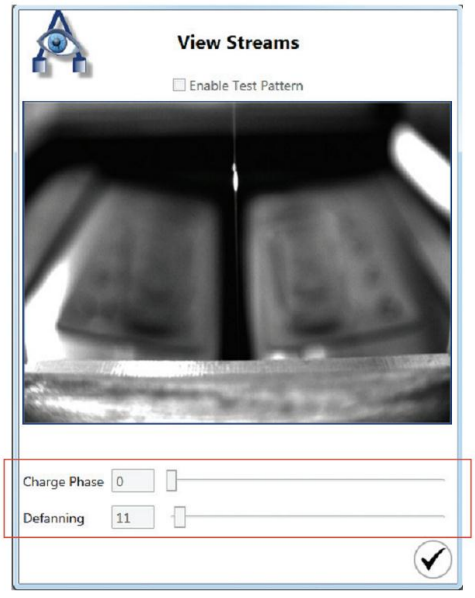


図 40　View Streams ウィンドウ：Charge Phase と Defanning のスライダーバーがハイライト表示されている

4.4.3 光軸調整(Alignment)

QC のアラインメントステップでは、ノズルステージがマイクロモーターにより自動的に移動して、固定されたレーザー軸に対して最適位置を走査します。光軸調整作業中はストリームとレーザーの両方が作動している必要があります。光軸調整後、PMT 各チャンネルの CV と PMT 電圧値がビーズロットファイルに記載された QC テスト基準と比較されます。QC テスト中はキャリブレーションが自動的に行われます。キャリブレーションの結果データは FCS ファイルに保存されます。QC 結果ファイルを見る時は Setup and Maintenance タブの **QC Report** ボタンをクリックして QC レポートウィンドウを開き、日時を指定します。表示された QC レポートウィンドウの一番下に配置されている FCS ファイルのオープンボタンをクリックすると QC ヒストグラムが表示されます(図 41)。

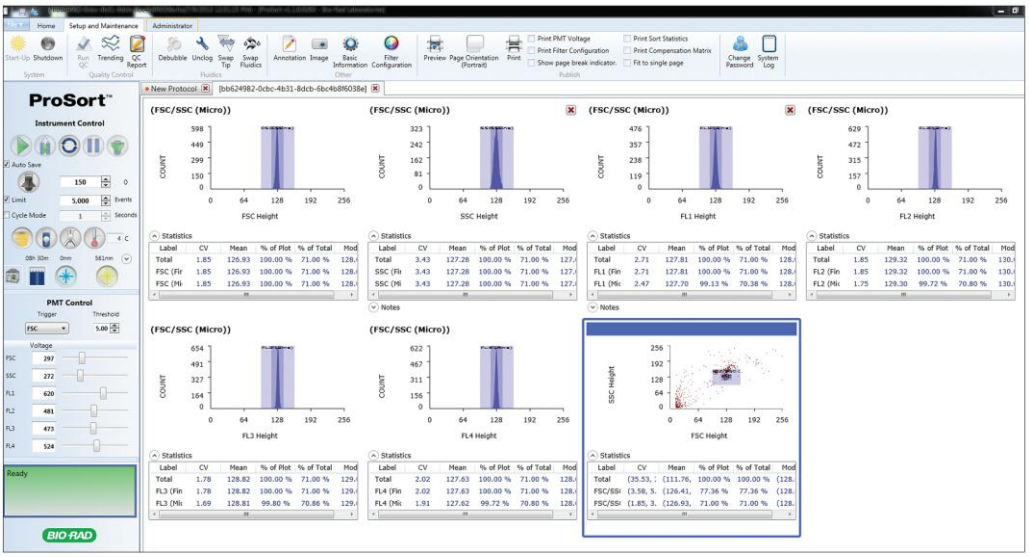


図 41 ワークスペースに表示された QC ヒストグラム

4.4.4 ドロップディレイ計算(Drop Delay Determination)

液滴とサイドストリームの最適化と光軸調整が終了すると、ProSort ソフトウェアは ProLine キャリブレーションビーズを使用して連続的にドロップディレイの計算を開始し、ドロップディレイを設定します。

ProSort ソフトウェアはキャリブレーションビーズの分析を行いながら同時にウェストストリーム(Waste Stream 廃液流)を分析することによって、ドロップディレイを正確に計算します。ここではイベントは最初にノズル直下のレーザー照射点(Interrogation Point)で検出され、その後、下流のウェストストリーム中でもう一度検出されます。ドロップディレイ設定は QC 中に自動的に調整されます。最初に大まかに調整された後に、より精細な調整が行われます。キャリブレーションビーズが中心のストリームから偏向されてウェストストリーム中に存在しなくなり、全てのビーズがコレクションチューブへと偏向されたタイミングが正確なドロップディレイ値になります。この方法によって Drop Delay 計算をした場合、顕微鏡下でビーズ数を数えなくても正確にドロップディレイを求めることができます。

ProDrop ソフトウェアの実行中は Drop Delay Alignment Status ウィンドウが表示されています。オレンジ色の線は最適なドロップディレイを示し、最終的にドロップディレイはこの値に設定されます。緑の点はウェストストリーム中に見つかったビーズ数を示しています。ドロップディレイ計算終了後、ウィンドウの右下に 3 つのボタンが現れます。左からドロップディレイ再計算ボタン、ドロップディレイ検証作業スタートボタン、及び、ウィンドウのクローズボタンです(図 42)。

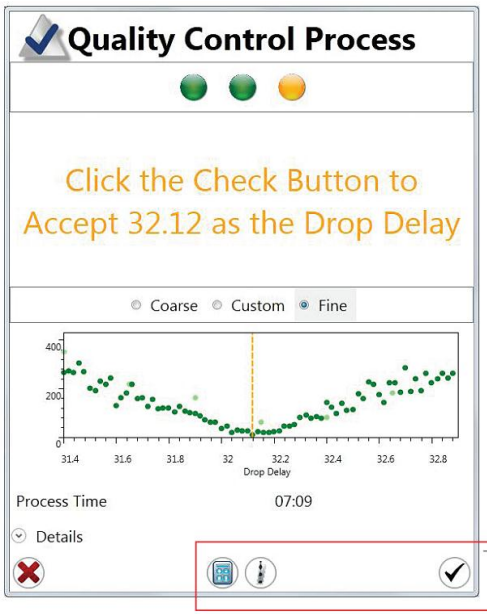


図 42　Drop Delay Alignment Status ウィンドウ

左から
- ■ ドロップディレイ再計算ボタン
- ■ 手動検証ボタン
- ■ ウィンドウクローズボタン

4.4.5　ドロップディレイの維持(Drop Delay Maintenance)

ドロップディレイ計算後、システムは自動的に液滴モニターモードとなり、ドロップディレイを設定値に維持します。必要な変更は自動的に行われます。ドロップディレイが維持されていることを確認する時は Home タブの **Droplet Monitor** ボタンをクリックします。表示される Droplet Monitor ウィンドウにはシステムがドロップディレイを維持しているかどうかの情報も表示されます（図 **43**)。

図 43　Droplet Monitor ウィンドウ:
状態(Maintaining と表示)と再計算ボタンが
ハイライト表示されている

4.4.6 ドロップディレイの再計算(Recalculate Drop Delay)

ProLine キャリブレーションビーズを使用してドロップディレイを再計算する時は、再計算ボタンをクリックします。本ボタンを使用した場合、Run QC とは異なり、ストリームの光軸調整や PMT チャンネルの CV チェックのいずれも行われず、ドロップディレイ計算のみが実行されます。

QC テスト中のドロップディレイ計算では、Drop Delay Alignment Status ウィンドウに表示されている再計算ボタンと同じボタンを Droplet Monitor ウィンドウ内で使用することができます。QC テスト中、再計算は満足のいく値が得られるまで何度でも繰り返すことができ、再計算を終了する時はチェックマークボタンをクリックします(図 **42**)。

4.4.7 QC 判定基準(QC Criteria)

QC テストで分析されるデータはシステムの光軸等アライメント調整後、QC 判定基準値に照合してチェックされます。アドミニストレーターとしての権限を有するユーザーの場合、アドミニストレータータブからこれらの設定画面を開き、設定値を変更することができます。詳しくはセクション 3.3「アドミニストレータータブツールバー」をご参照ください。

注意！

これらの設定のいずれを変更した場合でもシステムの性能全体に影響を及ぼします。

各蛍光パラメーターには 2 つの QC 判定基準値を設定することができます。

- **PMT 電圧:**ポピュレーションをプロット軸の 128 付近で検出するために必要な PMT 電圧は Bead Lot ファイルで規定されている各パラメーターに設定されている Max Voltage 以下でなければなりません。
- **変動係数(CV):**各パラメーターの CV 値は設定値以下でなければなりません。

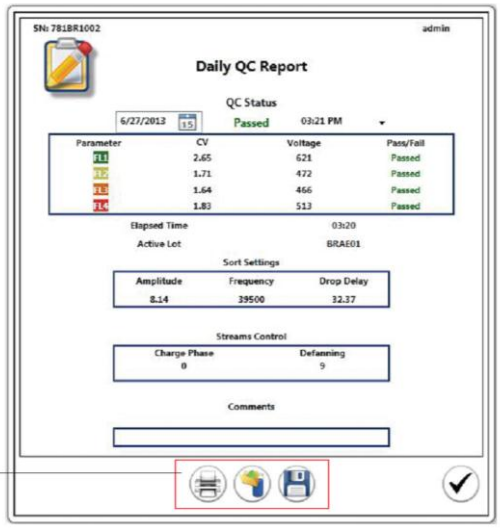
重要！

これらの値は ProLine キャリブレーションビーズのロット毎に調整しなければならない場合があります。

4.4.8 QC レポート(QC Report)

アラインメントとドロップディレイ計算が終了すると、Daily QC Report ウィンドウが表示されます。本ウィンドウには QC 状態が表示される他、QC テストへの合否結果も表示されます。QC レポートは保存又は印刷することができます(図 **44**)。

QC レポートを見る時は Setup and Maintenance タブの **QC Report** をクリックし、Daily QC Report ウィンドウを表示してから日付を選択します(図 **15**)。



左から
レポート印刷
QC の FCS ファイルを開く
QC の FCS ファイル保存

図 44 Daily QC Report ウィンドウ:QC 状態がハイライト表示されている

4.5 プロトコールとワークスペース(Protocols and Workspace)

データを表示するためには、サンプル分析前に少なくても 1 つのヒストグラム又はデンシティープロットを含むプロトコールが必要です。なお、プロトコールは前回使用したものが自動的にソフトウェア起動した時に開くように設定されています。プロトコールはヒストグラム、デンシティープロット、ゲート(gate)、領域(region)、トリガー(trigger)、閾値(Threshold)、PMT 設定値、ソートロジック、コンペンセーション設定、分析に必要なその他の情報が含まれています。プロトコールは別の実験用プロトコールのテンプレートとしても使用することができます。

新しいプロトコールを追加する:

1. **File** をクリックしてファイルメニューを開きます。
2. ドロップダウンメニューから New Protocol を選択します(図 **47**)。新しいプロトコールが新しいタブとしてワークスペースに表示されます(図 **45**)。
3. Home タブからヒストグラム(Histogram)又はデンシティープロット(Density Plot)をクリックしてワークスペースに追加します。プロットは追加した順番に自動的にワークスペースに追加されていきます(図 **14**)。
4. プロットをクリックしてウィンドウをアクティブにすると青いフレームが表示されます(図 **46**)。ハイライトされると選択したウィンドウ内に修正を加えることができる状態になります。
5. ウィンドウ内でパラメーター変更、ウィンドウのリサイズ、領域/バー/象限の追加、ゲート適用、統計情報の表示等を行います。
6. 他のプロットについて、上記の操作を繰返します。

プロトコールを閉じる時は Protocol タブの横の X をクリックします(図 **45**)。

図 45 新しいプロトコールを作成する

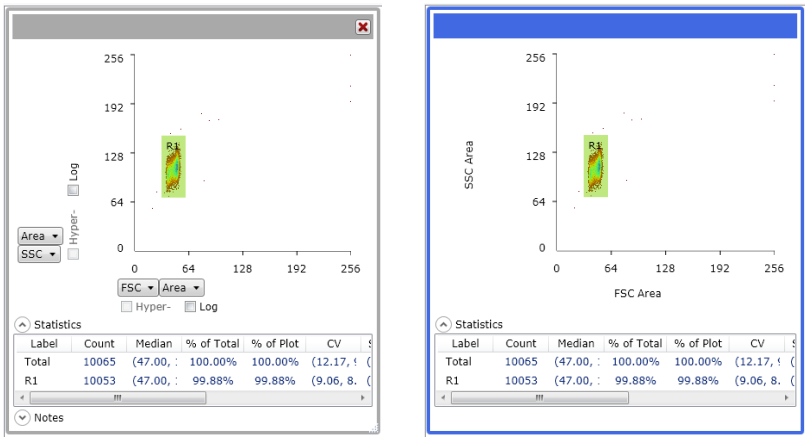


図 46 プロットの選択前(左)と選択後(右):選択後は青いフレームで表示されている

プロトコールは File メニューから保存することができます。プロトコール作成後、そのプロトコールを使用してサンプル分析する又は、保存済みの FCS ファイルにそのプロトコールを適応することができます。より詳細はセクション 4.5.4 をご参照ください。既存のデータファイルを開く時には同じくファイルメニューから FCS ファイルを開くことができます。

4.5.1 プロトコールを開く(Opening Protocols)

プロトコールは File メニューから開くことができます(図 47)。**Open Protocol** を選ぶとファイル選択ウィンドウが表示されます。ここで希望のプロトコールファイルを選択し、表示します。ファイル選択ウィンドウの File 名フィールドの横にはプロトコール又は FCS ファイルのドロップダウンボックスが表示されます(図 48)。FCS ファイルのオプションを選んだ場合は、FCS ファイルから直接プロトコールを開くことができます。

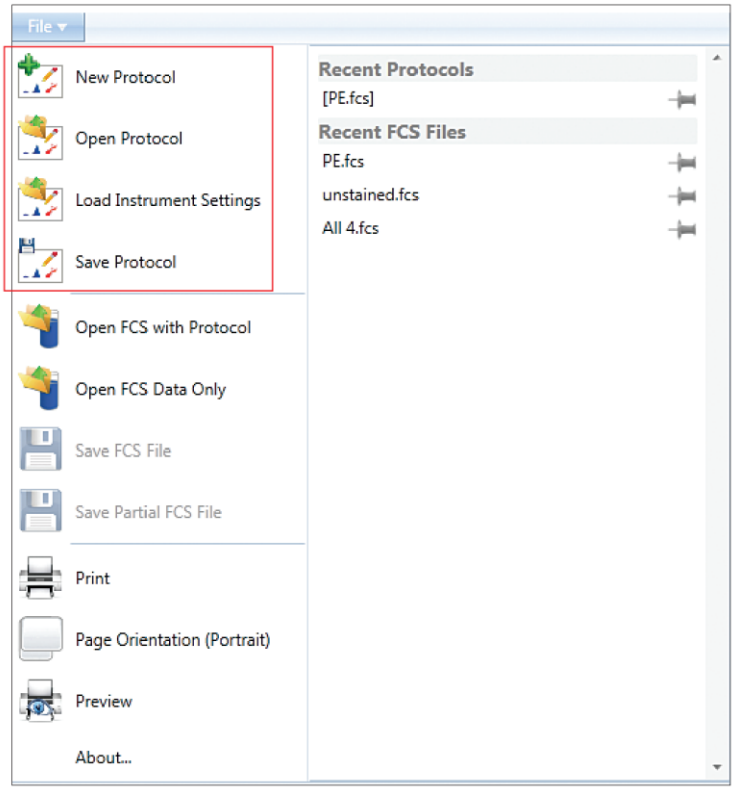


図 47 ファイルドロップダウンメニュー:
New、Open 及び Save の各プロトコールがハイライト表示になっている

図 48 Windows 標準のファイル選択ウィンドウ下部に表示されたファイル種類選択プルダウンメニュー

4.5.2 機器設定の読み込み(Loading Instrument Settings)

プロトコールは今後の実験のために保存しておくことができます。プロトコールファイルには以下の情報が含まれます:

プロット(plot)、領域(region)、ゲート(gate)、トリガー(trigger)、閾値(Threshold)、PMT 電圧、ソートロジック(Sort Logic)、ソートリミット(Sort Limit)、ソートモード、コンペンセーション設定、フィルター設定

新しいプロトコールに以前保存した機器設定を読み込むには:

1. 使用するプロトコールを開く、もしくは新しいプロトコールを作成して保存する。
2. ファイルメニューから Load Instrument Settings をクリックする。
3. 読み込みたい設定が含まれたプロトコールファイルを選択します。

機器設定が読み込まれて、現在のプロトコールに表示されます。分析・ソーティングの準備が完了します。

4.5.3 プロトコールを保存する(Saving Protocols)

プロトコールは保存することができます。プロトコールにはプロット(plot)、領域(region)、ゲート(gate)、トリガー(trigger)、閾値(Thresold)、PMT 電圧、ソートロジック、ソートリミット、ソートモード、コンペンセーション設定及びフィルターコンフィギュレーションの情報が含まれます。

プロトコールを保存する時は **File** > **Save Protocol**(図 **47**)をクリックします。

4.5.4 複数のプロトコールを表示する(Multiplaying Multiple Protocols)

ファイルメニューから既存のプロトコール又は新しいプロトコールを選ぶ方法で一度に複数のプロトコールを開くことができます。複数のプロトコールを開くと、それらはワークスペースの一番上にタブの形で表示されます(図 **49**)。タブ(プロトコール)ごとに機器、及び、そこに含まれている情報が更新されます。

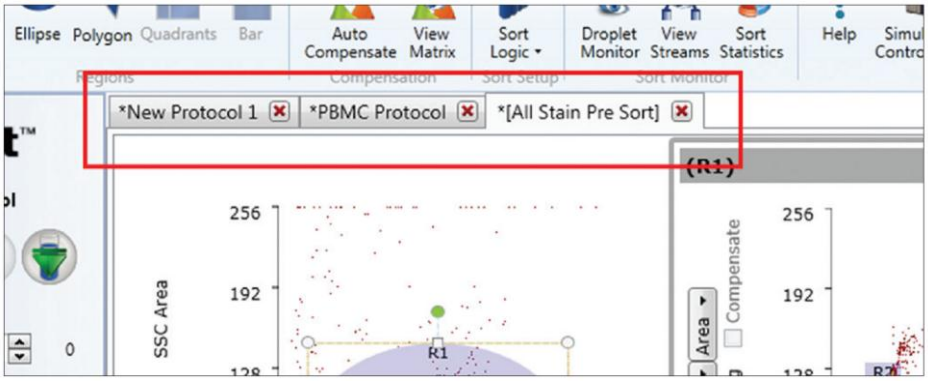


図 49 ワークスペース:プロトコールタブがハイライト表示されている

4.5.5 FCS ファイルを開く(Opening FCS Files)

FCS ファイルは 2 種類の開き方があります(図 **50**)。Open FCS Data Only で FCS ファイルを開くと使用中のプロトコールにデータを読む込むことができます。また Open FCS Data with Protocol で FCS ファイルを開くと、分析時のプロトコールと一緒にデータを開くことができ、その場合はプロトコールに含まれているゲートとプロットがワークスペースに表示されます。

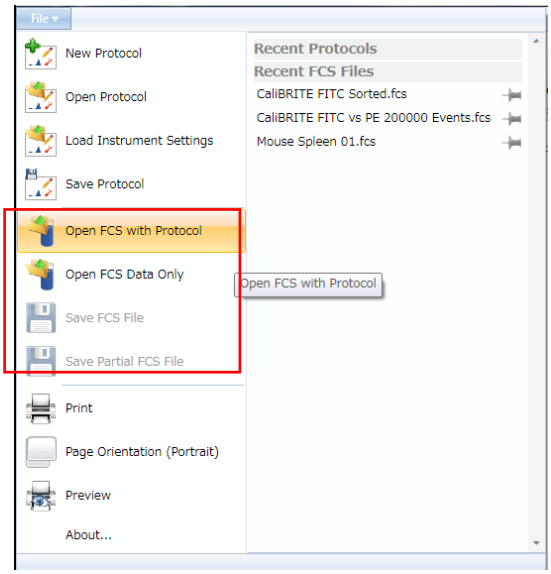


図 50 FCS ファイルを開く・保存コマンド

4.5.6 FCS ファイルの保存(Saving FCS Files)

コントロールパネル(Instrument Control(機器制御)パネル内)の Auto Save のチェックボックスがチェックさ

れていない場合、分析・ソート後に FCS ファイルを保存します。分析もしくはソート中に使用されたプロトコールの情報は FCS ファイルに含まれています。ファイルは分析後に再度開くことができ、後日の実験のテンプレートとして使用することもできます。

4.5.7 部分的な FCS ファイルの保存(Saving Partial FCS Flies)

ソーティングで大量のイベント数のデータが得られる場合、FCS ファイルの容量がが非常に大きなサイズになります。解析するために再度 FCS ファイルを開くと、大量のイベント数のためにデータ表示や解析にとても時間がかかる場合があります。このような場合には全イベントではなく指定したイベント数だけ保存することで、データ表示・分析をスムーズに行うことができます。イベント数を削減してデータを保存する場合には、ファイルメニュー＞Save Partial FCS Files を選択します。Save Partial FCS File Event ウィンドウが表示されます(図 **51**)。ウィンドウ内の Save Last Events の数値は分析・ソートの最後から数えたイベント数です。ソーティング全体の統計データはソートのイベント数に関わらずすべてこの Partial FCS ファイルにも保存されます。

具体的には、50 万イベントのソーティングをした場合、保存イベント数を 2 万イベントに設定して保存したファイルは最後の 2 万イベント(480,001-500,000 番目のデータ)が FCS ファイルとして保存されます。

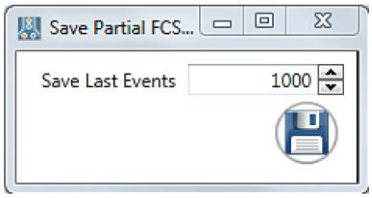


図 51 Save Partial FCS File Event ウィンドウ

4.5.8 ヒストグラムとデンシティープロット(Histograms and Density Plots)

ヒストグラムとデンシティープロットは Home タブを使用して作成します。ボタンをクリックするとプロットが作られ、ワークスペースに順次追加されます。プロットは前のプロットの右側に追加され、そして、必要に応じて次の行まで延長されます。ヒストグラムは FSC のデフォルトパラメーターで作成・表示され、デンシティープロットは FSC と SSC のデフォルトパラメーターで作成・表示されます。

4.5.9 プロットのリサイズ、移動、削除(Resizing, Moving, and Deleting Plots)

プロットがワークスペースに追加されると、画面のサイズに応じて自動的に配置されます。

ヒストグラム又はデンシティープロットのサイズ変更する場合:

1. 希望のプロットにカーソルを合わせます。
2. カーソルを右下のコーナー位置に合わせ、希望の大きさまでドラッグします。

プロットをワークスペース内で動かす時は、一番上のバーにカーソルを合わせ、そして、希望の位置までドラッグします。残りのプロットは合わせて自動的に移動されます。プロットを削除する時は、右上の赤い X ボタンをクリックします(図 **52**)。

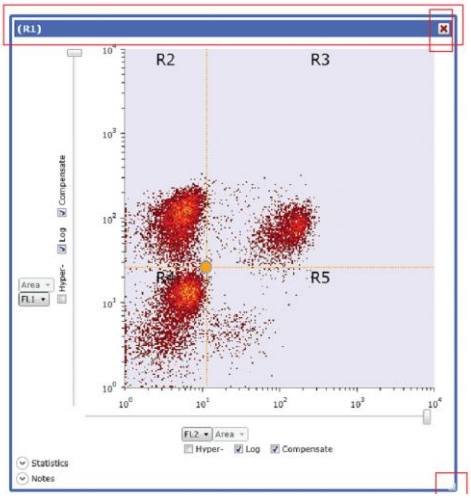


図 52 デンシティープロット:リサイズ、移動及び削除ボタンがハイライト表示されている

4.5.10 パラメーターの変更(Changing Parameters)

プロットに表示されているパラメーターを変更する時は、ドロップダウンメニューの矢印ボタンをクリックしてパラメーターを選びます(図 53)。対数軸表示(Log) 又はコンペンセーション(Compensate)パラメーターを変更する場合は、対応するボックスをクリックします。

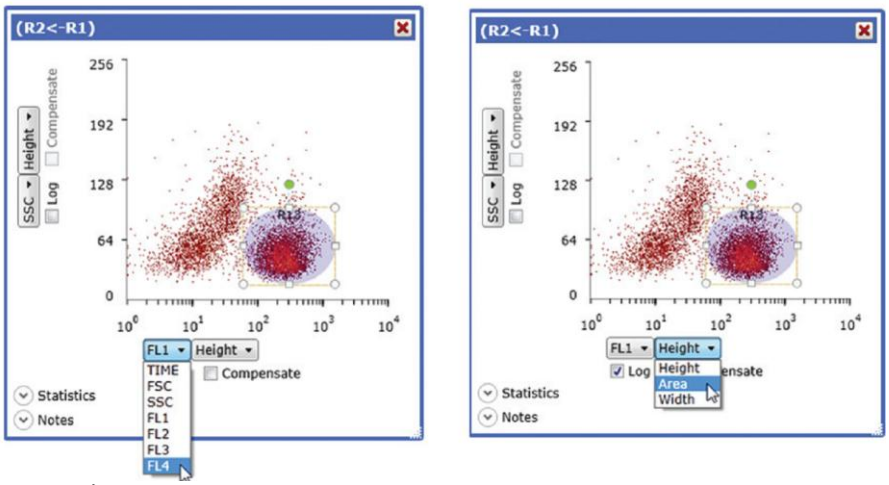


図 53 デンシティープロット:パラメーターが表示されている

4.5.11 統計データを見る(Viewing Statistics)

プロットの統計データを見る時は、プロットをハイライトして、左下の Statistics ドロップダウンメニューの矢印をクリックします(図 54)。統計データ表示を閉じる時は、同じボタンをもう一度クリックします。

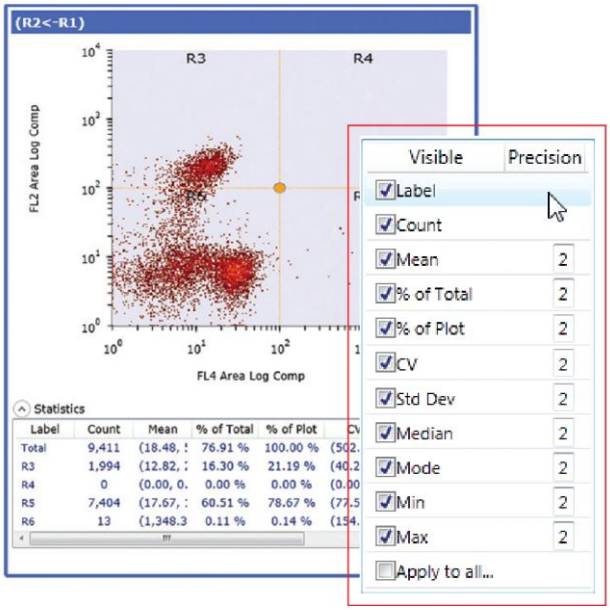


図 54 デンシティープロット:統計データの表が表示されている

4.5.12 統計データを編集/再表示する(Editing and Reordering Statistics)

表示している統計データの項目は削除/再表示することができます。削除/再表示の内容はプロトコールと一緒に保存されます。標準設定で表示される統計データを変更する場合にはセクション 3.3.8 初期設定(Global Preference)をご参照ください。

統計データ項目を削除する:

1. 統計データの表の上で右クリックする。
2. 統計データの表から削除する項目のチェックマークを外します。
3. プロトコール内全てのプロットに適応する場合にはメニュー最下部の「Apply to all…」にチェックを入れます。

統計データ項目の表示順を変更する:

1. タイトルバーの中の希望の項目名をクリックする。
2. 希望の位置までドラッグする。

もしくは

1. 統計データ右クリックして(図 **54**)プルダウンメニューを表示します。
2. 表示されたプルダウンメニュー内の移動したい統計項目をドラッグして移動します。
3. プロトコール内全てに適応する場合にはメニュー最下部の「Apply to all」にチェックを入れます。

少数点以下の有効桁数を変更するには:

1. 統計データ右クリックして(図 **54**)プルダウンメニューを表示します。
2. 設定したい項目の入力ボックスで小数点以下何桁まで表示かを入力します。
3. プロトコール内全てに適応する場合にはメニュー最下部の「Apply to all」にチェックを入れます

4.5.13 領域(Region)を作る(Creating Regions)

ヒストグラム又はデンシティープロット内に目的のポピュレーションを識別するための領域(region)を作るこ

とができます。ヒストグラム上に追加できる領域の種類はバー(Bar)だけです。それ以外の種類の領域は作ることはできません。デンシティープロット内には矩形(Rectangle)、楕円(Ellipse)、多角形(Polygon)又は象限(Quadrants)の領域を作ることができます。

Home タブから領域(Region)を作る:

1. 希望のプロットをクリックします(プロットがアクティブになると青のフレーム表示になる)。
2. Home タブから領域の種類を選びます。

プロット上でマウスを右クリックして領域(Region)を作る:

1. 希望のプロットをクリックします(プロットがアクティブになると青のフレーム表示になる)。
2. プロット内を右クリックして領域の種類(図 **55**)を選択します。

指定したプロット上に領域が作られます。領域は移動、リサイズ、削除が可能です。選択したプロットで作成できない領域ボタンはグレイ表示となります。

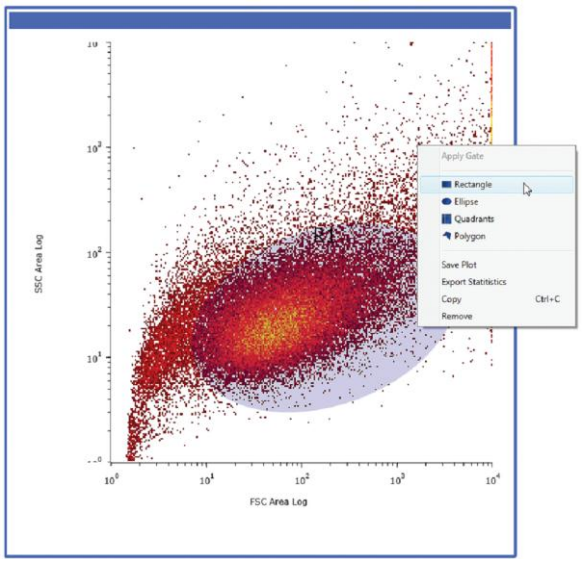


図 55 ウスの右クリックによる領域の作成

領域(region)は移動、サイズ変更、回転及び削除する:

1. 希望の領域(region)をクリックします。
2. 移動する場合には、マウスカーソルを領域の上に重ねると十字矢印のポインターになるので、この状態で希望の場所までドラッグします(図 **56**)。
3. 領域(region)を回転(傾ける)には、領域(region)にマウスポインターを重ねると表示される緑色の円インジケーターをクリックして希望の角度になるまでドラッグします(図 **56**)。
4. 領域(region)のサイズを変更するには、領域(region)の隅に表示される円や正方形のインジケーターをクリックして、希望のサイズになるまでドラッグします。
5. 領域(region)を削除するには、領域(region)内でマウスを右クリックして **Remove region** を選択します。

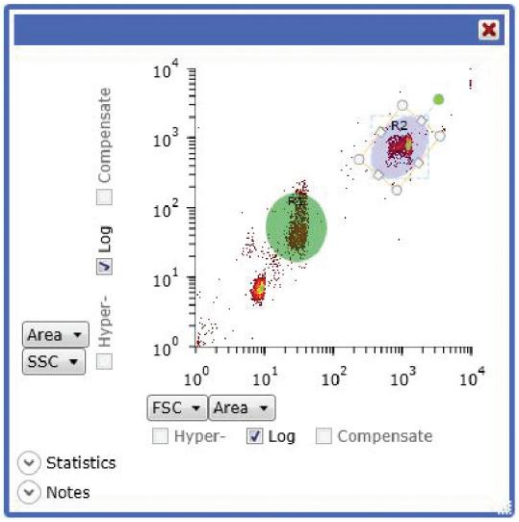


図 56 領域(region)の移動または回転

4.5.14 ゲート(Gate)を作る(Creating Gates)

領域を作成すると、プロット間にゲートを設定することができます。ゲート(Gate)を使用して、プロット内のイベントを別のプロット内の領域(Region)に反映させ、データを絞り込んで表示することができます。

ゲート(Gate)を作る(図 **57**):

1. ゲートを作るプロットを選びます。
2. プロット上を右クリックします。
3. その領域に Apply Gate を適用します。

ゲートが設定されたプロットのタイトルバーに適用された領域が表示されます。ゲートを解除する時は、解除したいプロット上を右クリックして、Clear Gate をクリックします。

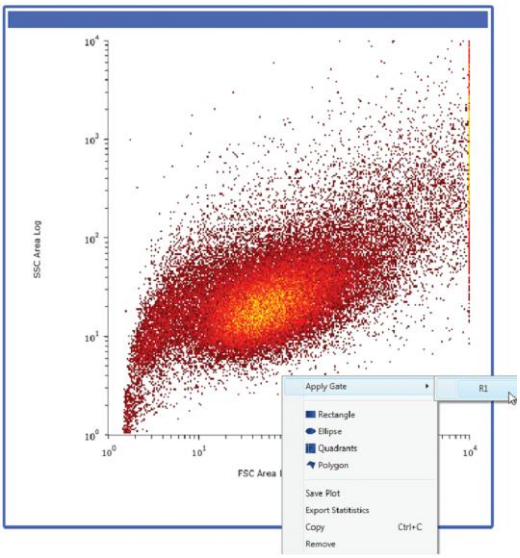


図 57 デンシティープロット:Apply Gate コマンドが選択されている

第 5 章－分析(Acquisition)

5 分析(Acquisition)

サンプル分析作業はソーティングにかかわらず単独で行うことができます。分析したサンプルのデータは FCS (**F**low **C**ytometry **S**tandard)3.1 ファイル形式で保存されます。これらのファイルは FCS 3.1 ファイルに対応しているサードパーティー製ソフトウェアを使用して分析することが可能です。サンプルを分析又はソーティングする場合、未染色サンプルや単染色のコンペンセーションコントロール等を事前に分析しておくことを推奨します。

5.1 分析作業のセットアップ(Acquisition Setup)

サンプルを分析する前に、プロトコールを読み込むか、新たに作成しなければなりません。分析作業を行う場合、ワークスペース上にヒストグラム又はデンシティープロットが一つ以上必要です。プロトコールは新たに作成する、既存のプロトコールを使用する、又は前回分析した FCS ファイルのものを使用するいずれかの方法で準備します。プロトコールの作成方法及び呼出し方法については、セクション 4.5「プロトコールとワークスペース」をご参照ください。機器の制御機能を使用する場合は全て、Instrument Control(機器制御)パネルから行います(図 **16**)。

分析又はソーティングをセットアップする:

1. プロトコールを新たに作成するか、既存のプロトコールを開きます。

注:ヒストグラム又はデンシティープロットを一つ以上作成する必要があります。

2. サンプルをサンプルポートにセットし、ローディングステージを分析位置に動かします。
3. 検出器の名前は、使用する蛍光団又はマーカーの種類が分かるような名前をパラメーター毎に個別に付けることができます。
4. Cycle Mode チェックボックスをクリックして、表示されるデータをリフレッシュしながら作業を行います。
5. イベントレート値(eps:Events Per Second)、Trigger(トリガー)及び Threshold(閾値)を設定します。
6. Instrument Control(機器制御)パネルの Start Sample Acquisition ボタン をクリックします。
7. ポピュレーションを所定の場所に導くことができるように PMT 電圧を調整します。
8. イベントレート値、Trigger(トリガー)及び Threshold(閾値)を微調整します。
9. 同じボタン をもう一度押して分析を終了します。
10. Limit(イベントリミット)をチェック/設定します。Gate Limit も選択することができます。この時点で Cycle Mode のチェックを外します。

注:コンペンセーションボックスをチェックした場合、データをハイパーログで表示させることもできます。

オプション:AutoSave を選んだ場合、イベントリミットに達した時点で自動的に保存画面が表示されます。

11. AutoSave を選択していない場合は、サンプル分析後にファイル保存を選択してデータを保存します。
12. サンプルチューブのロックを外し、取り外します。次のサンプルの分析前に、ローディングステージを洗浄位置に移動します。

注:調整中にデータをリフレッシュする場合、Cycle Mode とリフレッシュボタンのどちらも使用できます。

マルチカラー実験の場合はコンペンセーションが必要になります。自動コンペンセーションウィザードを使用するには、マルチカラーサンプルに加えて単一染色のコンペンセーション用コントロールが必要です。

13. 最初に検出するパラメーターから、単一染色のコンペンセーション用サンプルを分析します。
14. イベントリミットを設定します。この場合、ポジティブポピュレーションが見えるように十分に高い値にセットすること(例:10,000events)。データを分析してファイルを保存します。
15. その他のパラメーターについて、サンプル分析を繰返します。

16. 自動コンペンセーションウィザードを使用してマルチカラーサンプルのコンペンセーションを行います。

コンペンセーション方法についてはセクション 5.2.1「自動コンペンセーションウィザード」をご参照ください。

使用する蛍光団の種類によっては、信号を正しく分析できるようにフィルターの最適化が必要になる場合があります。フィルターのカスタムコンフィギュレーションの作り方についてはセクション 5.4「光学フィルター」をごをご参照ください。

機器制御機能の概要についてはセクション 3.2「コントロール(制御)パネル」をご参照ください。

5.1.1 イベントレート設定値(Target Event Rate)

イベントレートはサンプルの濃度に依存します。通常、イベントレートはサンプル濃度が 1,000,000 イベント/ml 毎に濃くなるにつき 1,000 イベント/秒ずつ上がります。一例として、サンプル濃度が 10,000,000 イベント/ml(10^7 イベント/ml)まで上昇すると、最大イベントレートは 10,000 イベント/秒となります。

また、イベントレートは Trigger(トリガー)と Threshold(閾値)設定によって変わります。イベントレートは Instrument Control(機器制御)パネルのイベントレートボックスを使用して入力することができます(図 **58**)。入力されたイベントレートの目標値は分析又はソーティングの期間中維持されます。但し、サンプル濃度がそのイベントレートの目標値に適している場合に限ります。イベントレートの目標値の表示の右横にはイベントレートの実測値が表示されます。実測値はソフトウェア画面の一番下のステータスバーにも表示されます。分析時のイベントレートの最大設定値は 100,000 イベント/秒です。

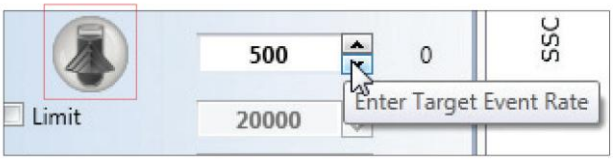


図 58 Target Event Rate 入力画面

5.1.2 イベントリミット(Event Limit)

分析時にはイベントリミットを設定することができます (図 **59**)。イベントリミットは分析される総イベント数であり、イベントリミットに達すると分析が自動的に終了し、FCS ファイルを保存することができます。1つの FCS ファイルに分析できる最大イベント数は 100,000,000(1 億イベント)までです。

注: 大きな FCS ファイルは保存、開く及び表示に時間がかかります。

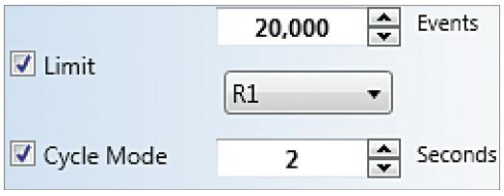


図 59 Event Limit(イベントリミット)と Cycle Mode(サイクルモード)

5.1.3 サイクルモード(Cycle Mode)

分析開始時、サイクルモードを使用すると設定変更中に表示データを短時間でリフレッシュすることができます(図 **59**)。サイクルモードの周期は秒の単位で設定されます。サイクルモードでは、その時間内に検出されたイベントが順次表示されていき、古いデータは表示されません。

PMT 電圧やトリガー(Trigger)や閾値(Thresold)設定を変更する時は、本機能を使用します。データとポピュレーションが所定のプロット上に表示されたら、サイクルモードを解除して通常の累積分析のための分析作業を再スタートします。

5.1.4 トリガー(Trigger)

トリガーは対象粒子をイベントとしてデータ処理するか否かを決定するための初期検出用のパラメーター

です。トリガーパラメーターと閾値を組み合せて使用して、検出/分析対象のイベントを設定します（図 **60**）。通常、トリガーとしては散乱光パラメーター(FSC/SSC)が使用されます。但しトリガーパラメーターは FSC/SSC だけでなく FL1 から FL4 のいずれのパラメーターも使用可能です。散乱光パラメーター（特に FSC）を使用した場合は蛍光信号に関わらず指定サイズ以上の全ての粒子がカウントされるため、一般的に使用されています。

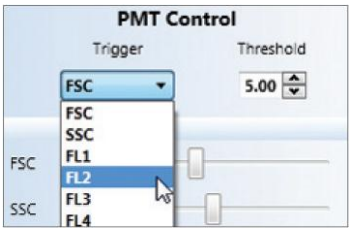


図 60 Trigger（トリガー）と Threshold（閾値）の設定画面

5.1.5 閾値(Threshold)

閾値はトリガーパラメーターを使用して設定し、0.1～100%の範囲に設定します(図 **60**)。閾値を設定する目的は、イベントの検出/分析を行いながらバックグランドの電気ノイズと細胞片(Debris)を除去して、細胞のみを測定する閾値を設定するためです。

5.1.6 PMT 電圧(PMT Voltages)

各パラメーターは光電子倍増管(PMT:Photo multiplier tube)を用いて検出されます。各 PMT について、それぞれ個別に電圧を調整することが可能です。PMT 電圧を調整することによって対象の細胞集団（ポピュレーション）をヒストグラム又はデンシティープロット上の適切な位置にプロットすることができるようになります(図 **61**)。各パラメーター名は PMT 制御パネル上で対象パラメーターをクリックすることにより、個別に入力することができます。パラメーターの名前を変更すると、フィルターコンフィギュレーションウィンドウとコンペンセーションマトリックスに含まれているプロットの軸の名前もそれに合わせて自動的に変更されます。

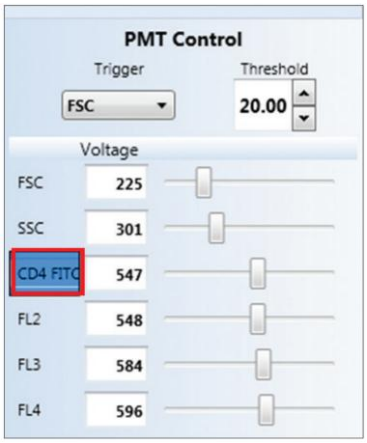


図 61 PMT 制御パネル:FL1 の名前が CD4 FITC に変更されている

5.1.7 自動保存(Auto Save)

自動保存チェックボックスは Instrument Control(機器制御)パネル上に配置されています。本チェックボックス(図 **62**)をチェックしておくと、分析又はソーティングが終了した時に FCS ファイルに名前をつけて保存するウィンドウが自動的に表示されます。

図 62 Auto Save(自動保存):チェック(選択)された状態

5.1.8 一時停止と再開(Pausing and Resuming)

分析作業は Instrument Control(機器制御)パネルから一時停止/再開することができます。一時停止すると、サンプル流が止まります。一時停止中もデータファイル内の時間パラメーターは動いたままであり、従って、再開した時には時間のギャップが生じます。

一時停止中にサンプルチューブを交換する場合:

1. ローディングステージの上のタッチロック液晶画面を押して南京錠のアイコンを開錠の状態に変更します。
2. ローディングステージを洗浄位置に移動します。
3. サンプルを交換します。
4. ローディングステージを分析位置に移動します。
5. タッチロック液晶画面を押して南京錠のアイコンを閉錠の状態に戻します。

再開する時は、Instrument Control(機器制御)パネルの再開ボタンをクリックします。

重要！

サンプルを取り出した後、新しいサンプルをセットする前に、ローディングステージが洗浄位置に戻らなかった場合は、ブースト圧力がかかりません。サンプルラインを洗浄しない場合は、次のサンプルがコンタミネーションする恐れがあります。

5.1.9 停止と保存(Stopping and Saving)

データを分析できたら、分析を終了してデータを保存します。データは FCS 3.1 ファイル形式で保存されます。データファイルには使用したプロトコール情報が含まれます。停止ボタンをクリックするとサンプルチューブへかかっていた圧力が解除され、サンプルチューブのロックが解除されます。次のサンプルの分析を始める前に、ローディングステージを洗浄位置に戻してサンプルラインのバックフラッシングとクリーニングを行ってください。

5.1.10 バックフラッシングと洗浄(Backflushing and Washing)

サンプルチューブのロックが解除された後、ローディングステージは洗浄位置に移動できます。洗浄はサンプルライン内のバックフラッシングとサンプルラインチューブの外表面の洗浄作業からなります。この洗浄はキャリーオーバーの防止と、システム全体の清浄度維持の観点から必須の作業です。洗浄終了後、ローディングステージは自動的にロックが解除されて、次のサンプルを分析位置にセットすることが可能になります。

追加で洗浄を行う場合は、次のいずれかの方法で行います。

- ローディングステージを 2 秒以上下げてから洗浄位置に戻す。これにより、洗浄サイクルがスタートします。
- ローディングステージの上のタッチロック液晶画面を押して南京錠のアイコンを閉錠の状態にする。これで洗浄サイクルが再度開始されます。

5.2 コンペンセーション(Compensation)

コンペンセーションは検出器のスペクトルオーバーラップ(Spillover:スピルオーバー)を除去するための機能です。蛍光ラベル及びプローブからの蛍光スペクトルはオーバーラップすることが多いため、それを補正するためのコンペンセーションプロセスが必要です。特に、複数の抗体又はプローブの蛍光を同時に測定する場合には、コンペンセーションプロセスが必須になります。分析作業時、スペクトルのオーバーラップを除去するため、蛍光間でコンペンセーション量を調整することが可能です(図 **63**)。

以下のデンシティープロットは FL1 データを表示するプロットです (図 **63**)。FL1 ポジティブポピュレーションは FL2 で検出される蛍光を持っていないにも関わらず、FL2 スケール上でネガティブポピュレーションよりも高い値を示しています。しかし、コンペンセーションプロセスを実施すると FL1 のポジティブポピュレーションと FL1 ネガティブポピュレーションは FL2 パラメーター上での中央値が同値となります。

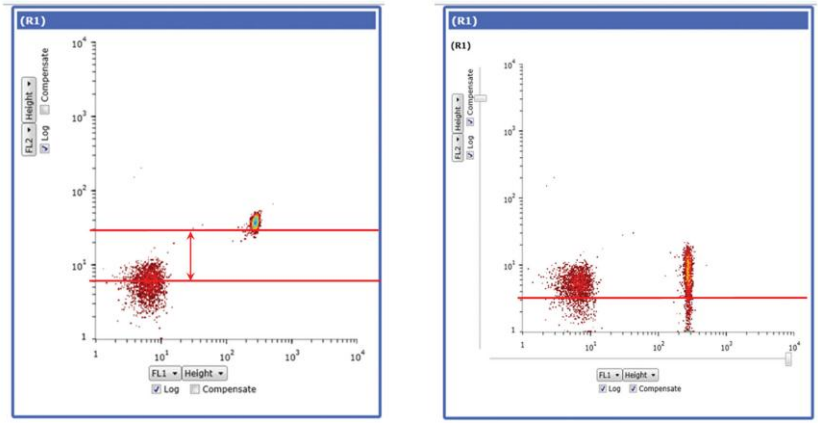


図 63 デンシティープロット:コンペンセーション前(左)とコンペンセーション後(右)のデータ

FL2 ポジティブ基準値ついても同様のコンペンセーションを行います。但し、こちらの場合は、コンペンセーション量はかなり少なくて済みます(図 **64**)。

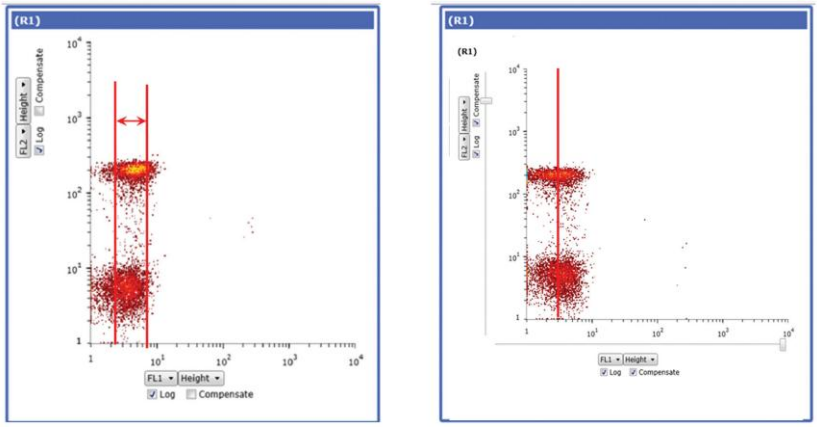


図 64 同じデータのプロット:不適正なコンペンセーション(左)と正しいコンペンセーション(右)のデータ

コンペンセーションの調整を行うとそれに合わせて Compensation Matrix(コンペンセーションマトリックス)が更新されます。Compensation Matrix を見る時はツールバーのボタンを使用してください(図 **65**)。

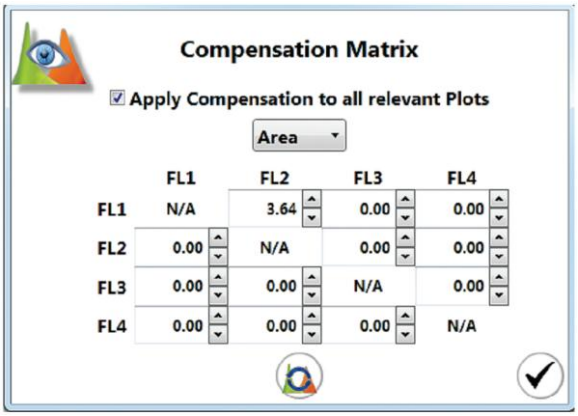


図 65 Compensation Matrix (コンペンセーションマトリックス)

5.2.1 自動コンペンセーションウィザード(Auto Compensation Wizard)

自動コンペンセーションウィザードは各パラメーターのコンペンセーションマトリックス係数の計算ウィザー

ドです。コンペンセーションマトリックス係数を求める際には、各検出チャンネルの単一染色サンプルを分析して、事前に FCS ファイル保存しておく必要があります。

自動コンペンセーションウィザードを使用する:

1. 各検出チャンネルの単一染色サンプル及び多染色サンプルを分析します。
2. FCS ファイルを保存します。
3. **Home タブ> Compensation Wizard** をクリックします。
4. 各パラメーターのファイルアイコンをクリックします(図 **66**)。

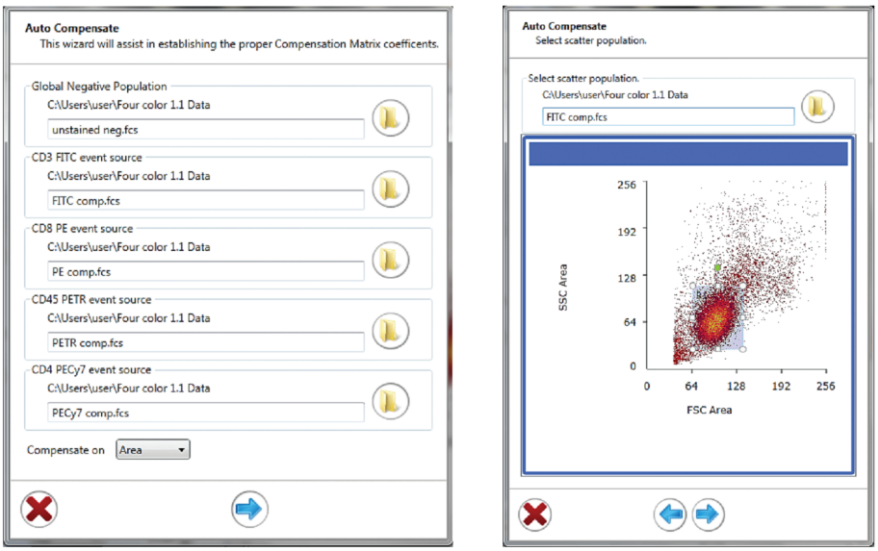


図 66 自動コンペンセーションウィザードを使用して各検出チャンネルの FCS ファイルを指定

5. 各検出チャンネルの単一染色サンプルの FCS ファイルを指定します。
6. 全検出チャンネルについて、Height(高さ)と Area(面積)のいずれかを使用するかを選択します。
7. 青矢印ボタンをクリックして自動コンペンセーション計算ウィザードを開きます(図 **67**)。
8. 必要に応じて、散乱光、ネガティブ及びポジティブの領域を調整します。

注:ポジティブとネガティブのポピュレーションのゲートが重ならないように設定してください。

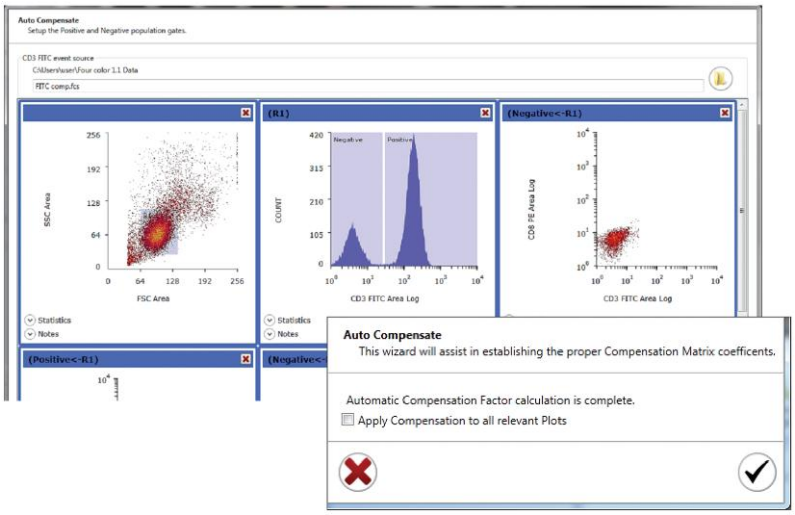


図 67 自動コンペンセーションウィザードを使用してポジティブゲートとネガティブゲートを調整する

10. 青矢印ボタンをクリックして次の検出チャンネルの単一染色サンプル分析に進みます。
11. 残りの単一染色サンプル分析についても上記ステップ 9 及び 10 を繰返します。
12. 全ての検出チャンネルの調整できたら、**チェックマークボタン**をクリックします。以上で自動コンペンセーション計算は完了です。
13. ヒストグラム又はデンシティープロットの軸に付いているコンペンセーションボックスにチェックマークを入れます。これでコンペンセーション後のデータが表示され、分析又はソーティングができる状態になりました。
14. 必要なら、この時点でコンペンセーションマトリックスを確認することができます。

対数(Log)表示ではなくて Hyperlog 表示することで、値が 0 未満のデータを正しく表示することができます(図 **68**)。Hyperlog 目盛のプロットはコンペンセーションのプロットだけに使用されます。本プロットは 0 付近の小さな範囲のプロットを線形な目盛に変換し、各軸に少量の負の対数スケールを追加することによって、ネガティブイベントが軸上に重なるり合うことを防止します。これによりコンペンセーションデータを見やすく表示することができます。

注:Area パラメーターはグレイ表示にされています(図 **68**)。本図の場合、Compensate にチェックマークが入っているので変更はできません。自動コンペンセーションの時に Area と Height のいずれにコンペンセーションを設定するかは、自動コンペンセーションの時にどちらを選んだかによって決定されます。

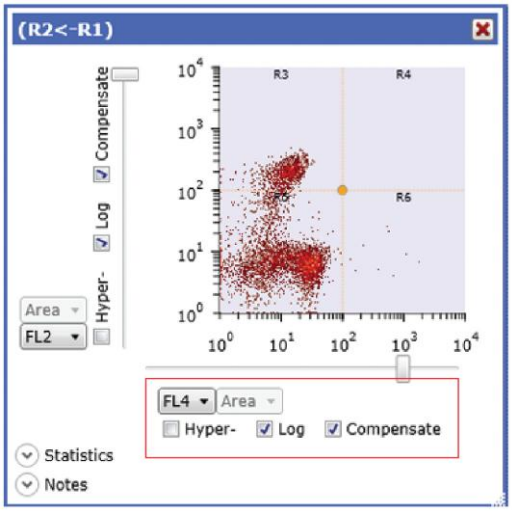


図 68 デンシティープロット:Hyper-Log、Log(対数)及びコンペンセーションオプション

5.2.2 手動コンペンセーション(Manual Compensation)

ソフトウェアの自動コンペンセーションウィザードを使用することを推奨しますが、コンペンセーションマトリックスで手作業によりコンペンセーションの修正をすることが可能です (図 **69**)。手動コンペンセーションはこれまで長く使用されてきたにも関わらず、正しいコンペンセーションを設定するのが難しいため、統計的に正しいコンペンセーションが手動で得られることが分かっている場合を除き、自動コンペンセーションウィザードを使用することを推奨します。コンペンセーションは実験で使用される各蛍光色素をコントロールします。最も正確な調整を行えるのはポジティブとネガティブの両方のイベントがサンプルに含まれている場合であり、ポジティブイベントは 5,000 以上含まれていることが望ましいです。サンプル分析後、各サンプルファイルを一つずつソフトウェアにセットし、調整したいパラメーターのヒストグラムを準備し、ヒストグラムの軸に付いている Comp ボックスをクリックします。デンシティープロットに象限(Quadrants)を適用することによって、ネガティブポピュレーションの中央値をポジティブポピュレーションの中央値に合わせることが可能になります(図 **68**)。マトリックス内の値が変更になるとポピュレーションが動きます。中央値同士が一致するまで調整を行ってください。

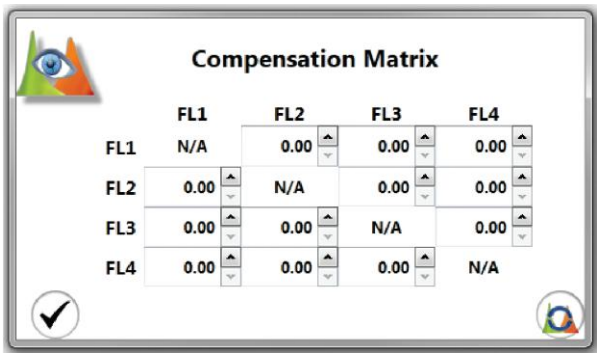


図 69 コンペンセーションマトリックス

5.3 送液タンクの確認又は交換(Checking or Swapping Fluidics)

送液タンクはシステム本体内に内蔵されています。送液タンクにアクセスする時は左手前のドアを開けます。送液タンクは定期的に交換します。4 章「スタート」でも述べたように、送液タンクはソフトウェアのスタート前、又は、システムのシャットダウン後に交換してください。スタートアップ後や分析中に送液タンクを交換しなければならない場合、S3 セルソーターはシステムを停止することなく簡単にタンクを交換することができるようになっています。この機能をホットスワップ(Hot Swap)と呼称しています。

Instrument Control(機器制御)パネル上の送液状態インジケーターはタンク重量に基づいて計算したおおよその分析可能時間を示しています(図 **71**)。インジケーター上に表示される時間は廃液タンク・シースタンク・DI 水タンクの3つ内、最も残り分析時間が少ないものを表示します。インジケーターをクリックすると、より詳細な情報を表示する Fluidics Status ウィンドウ(図 **70**)が表示されます。本ウィンドウは残りの分析時間がおよそ 1 時間になった時点で自動的に表示され、その後、スワップが実施されるまで 15 分間隔でアラームが表示されます。アラームは必要な場合にはスヌーズ(Snooze)にすることができます。Fluidics Status ウィンドウ下部中央の Hot Swap ボタンを押すとハイライト表示になり、ホットスワップ機能を使用できる状態になります。

警告！ 残りの分析時間が 5 分になると、システムが自動停止します。この場合は、タンクを補充した後、スタートアップ・QC を実施してライン中に空気が残っていないこと、及び、QC テストがパスすることを確認する必要があります。

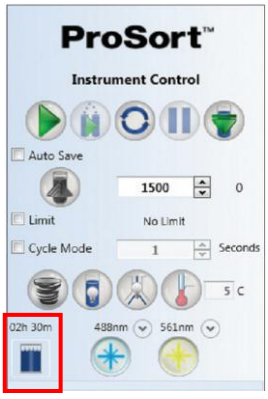


図 71 Control パネル上の送液タンク

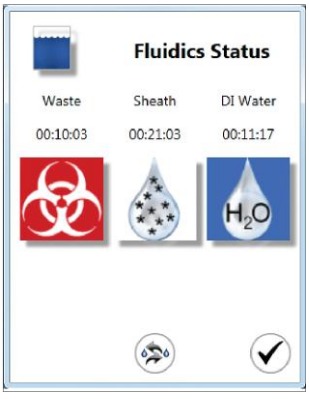


図 70 Fluidics Status(送液タンク状態)ウィンドウ

5.3.1 ホットスワップ(Hot Swap)

ホットスワップは機器のスタートアップ後、分析中にシステムを停止並びにシャットダウンすることなく送液タンクを交換できる機能です。S3 システムは他のセルソーターとは異なり、1x シース液/廃液ボトルを本体に内蔵しているので、ソーティング/分析の作業を中断することなくホットスワップを行うことが可能であり、再加圧の作業は不要です。

重要！ ホットスワップを行う時は、事前に交換用タンクを用意しておくこと。これは、内部ボトルの液量が少ないため、スワップ作業を実施できる時間が 3 分間に制限されているためです。

ホットスワップを行う:

1. Setup and Maintenance タブの Swap Fluidics をクリックします。
2. Swap Fluidics ウィンドウのプレイボタンをクリックします。システムが自動停止するまでの時間、つまり、スワップ作業終了までの残り時間のカウントダウンタイマーがスタートします(図 **72**)。

警告！ スワップ中に使用されているシステム内のシース液の量は限られています。タイマーがゼロに達するとシステムが自動シャットダウンします。スワップ作業は迅速且つ慎重に実施してください。システムがシャットダウンした場合は、サンプル分析を再開する前に QC テストを実施する必要があります。

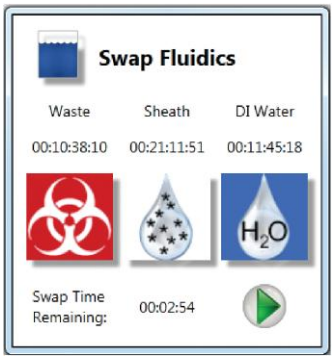


図 72 Swap Fluidics ウィンドウ:
スワップ完了までの残り時間が表示されている

3. 送液タンクドアを開けます。
4. タンク上部の金属ボタンを押してクイックディスコネクターをキャップから取り外します。
5. クイックディスコネクターを磁気ホルダーに当たるまで引き上げます。これによりクイックディスコネクターを破損から防ぐことができます。

8x シース液又は DI 水の場合:

6. 空になったシース液又は DI 水のタンクを少しだけ持ち上げて、引き出します。
7. タンクのキャップを取り外します。
8. 新しい 4L タンクを開けてシールを剥がします。
9. 新しい 4L タンクにキャップを取り付け、キャップを取り付けます。
10. ステップ 11 に進みます。

廃液タンクの場合:

6. 満杯になった廃液タンクを少しだけ持ち上げて、引き出します。
7. 廃液タンクからキャップを取り外します。
8. 廃液タンクを慎重に空にします。廃液は生物学的及び化学的危険物質として取り扱い、実験室のルールに従って廃棄してください。
9. 新しい廃液タンクに交換するか、空にしたタンクにキャップを取り付けます。
10. ステップ 11 に進みます。
11. タンクを元の位置に戻します。

12. キャップにクイックディスコネクターを取り付けます。正しく取り付けられたら、カチッという音がします。

13. Swap Fluidics ウィンドウのプレイボタンをクリックしてホットスワップ作業を終了します。

重要！

- シース液又は DI 水の容器を扱う時は、汚染防止のため、できるだけ空気に触れないようにすること。
- キャップを新しいタンクに付け替える時は、キャップがタンクの外表面に当たらないように注意すること。キャップを下に置かなければならない場合は、滅菌処理した台の上に置くこと。
- 廃棄物は全て生物学的危険物として処理すること。

5.4 光学フィルター(Optical Filter)

光学フィルターは蛍光を分光して、PMT に導入するための装置です。光学フィルターは S3 システムの上部後方スライドドアの中に入っているフィルターブロックに配置されています。

5.4.1 標準フィルターコンフィギュレーション(Standard Filter Configuration)

S3 システムの標準フィルターコンフィギュレーションを図 **73** に示します。フィルターコンフィギュレーションは ProSort™ ソフトウェア内で確認・変更することができます。

フィルターコンフィギュレーションを見る/変更する:

1. Setup and Maintenance タブの **Filter Configuration** をクリックします。
2. フィルター名又は波長を変更する時は、そのフィルターのアイコンをクリックします。
3. チェックボタンを押すと保存されウィンドウが閉じます。

警告！ フィルターのコンフィギュレーションを変更すると、全てのプロトコールに影響します。

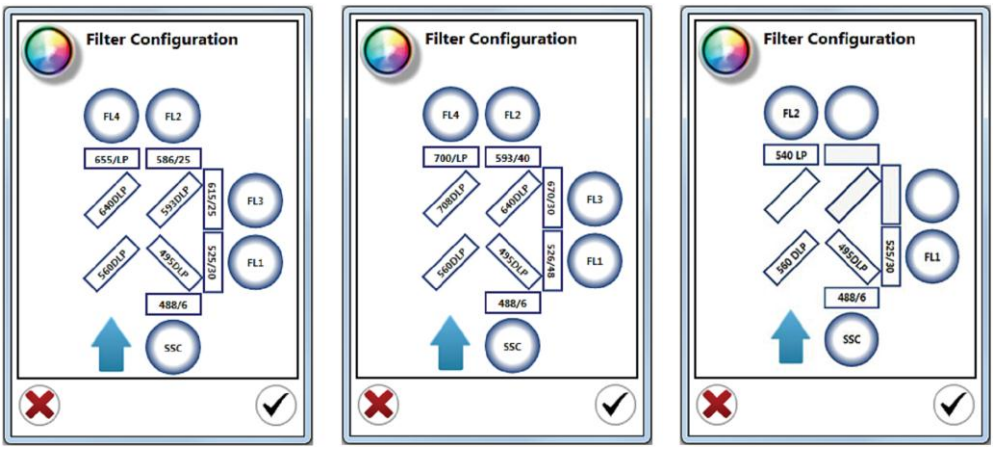


図 73 異なるフィルター設定:
(左)488/561nm システム、(中央)488/640nm システム、(右)488nm システム

各 PMT 検出器の直前には ND フィルターもしくはバンドパスフィルターを挿入するためのフィルターホルダーが配置されています。各ホルダーにはアクセサリーキットに含まれる赤色スパナで取外しが可能なねじ締め式のリテーナーリングが付いています。蛍光強度が強すぎて PMT では調整しきれないような場合には同じくアクセサリーキットに含まれる ND フィルターをこのフィルターホルダーにセットして減光することにより、最適検出条件に設定することができます。

5.4.2 光学フィルターブロック(Optical Filter Blocks)

S3 及び S3e システムには2つのフィルターインストール済み光学フィルターブロックが配置されています。このフィルターブロックはシステムの種類によって内蔵フィルターが異なります。光学フィルターブロックは別の蛍光色素用のものに簡単に交換することができます。フィルターブロックは銀色ハンドル部分を持って簡単に外すことができます(図 **74**)。

図 74 光学フィルターブロックを持ち上げる

フィルターブロックにはダイクロイックミラーフィルター又はバンドパスフィルターが内蔵されています。これらのフィルターは交換が可能で、表 28 に示すように複数のサイズのフィルターを取り付けられるようになっています。ダイクロイックミラーのホルダーはブロックの底から六角ネジでロックするようになっており、ロックを解除すると、ブロック上部から取り出すことができます。

表 28 光学フィルターブロックに取り付けられるフィルターのサイズ

フィルター	仕様
直角入射フィルター (バンドパスフィルター用)	■ 25.4 ㎜(1 in)、円形、厚さ 2 ㎜以下 ■ 12.7 ㎜(0.5 in)、円形、厚さ 2 ㎜以下 ■ 11 x 11 ㎜、正方形、厚さ 2 ㎜以下 ■ 12 x 25.4 ㎜、矩形、厚さ 2 ㎜以下
ダイクロイックフィルターホルダー 	■ 25.4 ㎜(1 in)、円形、厚さ 2.7 ㎜以下 ■ 12 x 25.4 ㎜、矩形、厚さ 2.7 ㎜以下
ND フィルター 	■ 25.4 ㎜(1 in)、円形、厚さ 10 ㎜以下

第 6 章－ソーティング(Sorting)

6 ソーティング(Sorting)

細胞集団(ポピュレーション)のソーティングは細胞の種類、サンプル中の目的細胞集団の存在比率、細胞濃度、サンプル調製手順、ソートロジック等の要素に強く依存します。ソーティングは、死細胞と細胞破片などのデブリス(debris)によるコンタミネーションを最小限に抑えた単一細胞の懸濁液を使用して開始することが重要です。

6.1 セットアップ(Sort Setup)

ソーティング操作のセットアップは殆どが自動化されていて、それらは日常の QC テストを行うことで完了します。ソーティングの準備ができたら、領域(Region)とゲート(Gate)を設定して希望の細胞集団(ポピュレーション)を選択してソートロジックをセットします。

ソーティングを開始するには:

1. File > New Protocol 又は Open Protocol をクリックします。
2. Home > Histogram 又は Density をクリックしてワークスペースにプロットを追加します。
3. 必要なら、サンプルポートとソートチャンバーの温度を設定します。
4. セルストレーナー等のフィルターを通したサンプルをサンプルポートにセットします。
5. ローディングステージを分析位置に移動します。
6. Instrument Control(機器制御)パネルの **Start** をクリックして少量のサンプルを分析します。
7. 対象の細胞集団のプロットに領域(region)とゲート(gate)をセットします。
8. ソーティングする領域(region)を右クリックして、ソーティング方向(Left Sort もしくは Right Sort)を選びます。
9. 2 方向(2 Way)ソーティングを行う場合は、もう一つの領域を指定します。
10. Sort Logic ドロップダウンメニューからコレクションチューブの種類を選択します。
11. Sort Logic ウィンドウのソートモード(Purity、Enrich、Single)とイベントリミットのパラメーターをコレクション位置ごとに設定します(図 **75**)。
12. あふれ(オーバーフロー)防止のためにソーティング容量をモニターする場合は、コレクションチューブに予め入れてある培地やバッファーの容量を入力しておきます。(表 29)
13. コレクションチューブをコレクションチャンバーに置きます。

注: 5ml チューブの場合、分取される細胞のクッションとして 0.5ml 以上のバッファーを最初に入れておくこと。1.5ml チューブの場合は 0.1ml 以上のバッファーを最初に入れておくこと。(表 29)

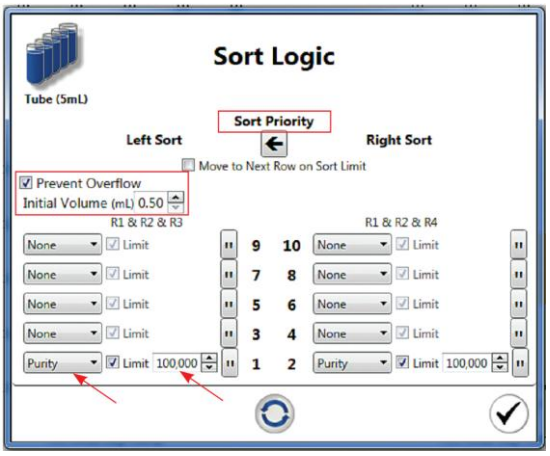


図 75 Sort Logic ウィンドウ

表 29 Sort Logic の Initial Volume(初期容量)設定

	Initial Volume 初期値	Initial Volume 設定範囲	最大容量
5ml チューブ	0.5ml	0.5～2ml	4ml
1.5ml チューブ	0.01ml	001～0.5ml	1ml
8ウェル ストリップ	0.05ml (50 μl)	0.05～0.15ml (50～150 μl)	0.35ml (350 μl)

14. ソートチャンバードアを閉めます。

15. Instrument Control(機器制御)パネルの Start Sort ボタンをクリックします。Sort Statistics ウィンドウ(図 **76**)が表示されて、ソーティングが始まります。Sort Statistics ウィンドウは Home ツールバーの Sort Statistics ボタンをクリックしても開くことができます。右上の矢印ボタン(図 **76**、赤四角)をクリックするとソート位置ごとの表を表示することができます。

16. Limit(限度)が設定されていない場合は、ソートボタンをクリックしてソーティングを停止します。

17. ローディングステージを洗浄位置に戻します。

18. ソートチャンバーのドアを開け、コレクションチューブを取り出します。

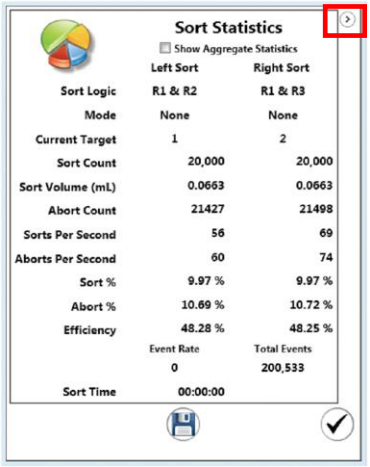


図 76 Sort Statistics ウィンドウ

6.1.1 ソートコレクション(Sort Collection)

S3 及び S3e システムは 4 種類のソーティング用コレクションチューブに対応しています。

- 5mL チューブ(12x75mm; PP:Polypropylen ポリプロピレンチューブを推奨)
- 1.5mL チューブ
- 8 ウェルストリップ(平底)
- 顕微鏡用スライドガラス

ソーティングは 5mL と 1.5mL チューブの場合には各方向にチューブ 5 本ずつまでのソーティングが可能です。コレクションチャンバーにはめるだけのコレクションアダプターを使用して 8 ウェルストリップ(96 ウェル ELISA 用のリジッド式ストリップ)又は顕微鏡ガラススライド(1 枚で 10 スポットまで)上にソーティングすることができます。各チューブ/ウェルはそれぞれ別々のソートロジックと Limit を設定することができます。

ソートする細胞に対する緩衝材として、また液滴の蒸発防止とソート中の細胞生存率維持のため、ソーティング前にコレクションチューブ又はウェルに培地、バッファー又は血清を予め加えておきます。5mL チューブの場合、バッファー又は培地の量は 0.5mL 以上にすることを推奨します。1.5mL チューブの場合は 0.1mL 以上とすることを推奨します(表 29)。

注:ソートチャンバーはサンプルローディングポートと同じ温度に制御することができます。この温度制御設定は Instrument Control(機器制御)パネル上でオン/オフと設定温度入力を行うことができます(図 **16**)。

6.1.2 容量モニター(Volume Tracker)

ソーティング時、システムはコレクションチューブ内に偏向される液滴容量と液滴数をモニタリングしています。容量モニターはチューブがオーバーフローしないように、もしくはオーバーフローした結果、他のチューブへのコンタミネーションが発生しないようにソーティングを自動的に停止する、あるいは次のチューブ位置へ移動するための機能です。

容量モニター機能をオンにする:

1. Sort Logic ウィンドウの Prevent Overflow チェックボックスをクリックします(図 **77**)。
2. コレクションチューブの初期容量(充填量)を Initial Volume(mL)に入力します。

注:初期容量は 5mL チューブの場合、0.5mL 以上、2mL 以下とする。また、1.5mL チューブの場合は 0.1mL 以上、0.5mL 以下とする(表 29 をご参照ください)。

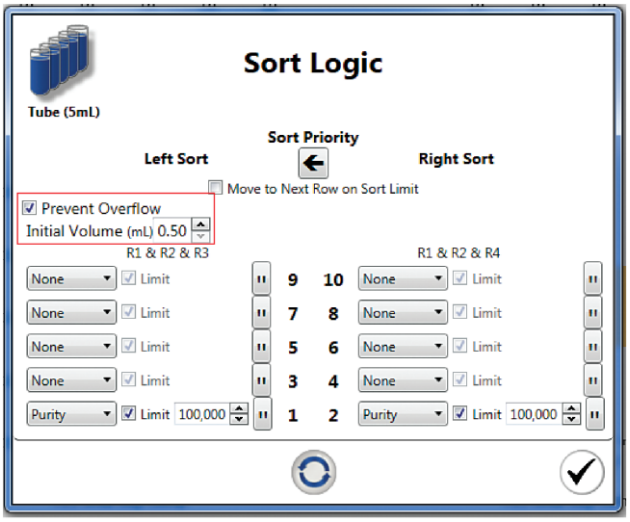


図 77 Sort Logic ウィンドウ:Prevent Overflow がハイライト表示されている

注:Limit(ソート限度)を設定して容量モニターをオンにすると、Limit 値もしくは容液量のどちらかの条件が限界に達した時点でそのチューブのソーティングは停止します。

重要!

5mL チューブの最大分取量は 4mL です。1.5mL 分取チューブの最大分取量は 1mL です。これ以上の量を分取した場合は飛散又はコンタミネーションのリスクが生じます。

6.1.3 ソートの領域設定(Setting Regions to Sort)

ヒストグラムとデンシティープロットでは領域(Region)とゲート(Gate)を使用してソートロジックを作成します。ソートロジックは複数の領域(Region)を使用して作成することができます(図 **78**)。

ソートロジックを設定する:

1. 領域(Region)とゲート(Gate)を使用して目的細胞集団を特定します。
2. 領域(Region)内を右クリックして Left Sort 又は Right Sort のいずれかを選択します。選択した領域(Region)の色が変わり、ゲートに使用している領域(Region)の色が変わります。ソート選択に使用している領域(Region)は Sort Logic ウィンドウと Sort Statistics ウィンドウ上で確認することができます。

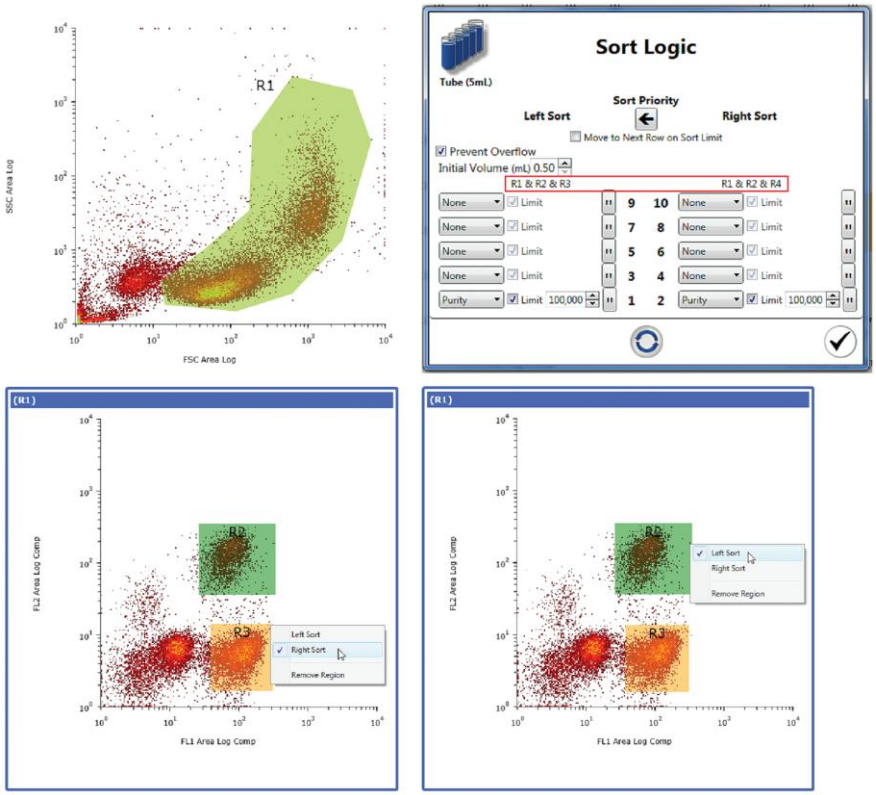


図 78 ソートロッジック(Sort Logic)を設定する

6.1.4 ソートロジックとコレクションチューブ (Sort Logic and Collection Vessel)

領域(Region)とゲート(Gate)を Left Sort 又は Right Sort に割り当てた後、コレクションチューブを選択します。Sort Logic ウィンドウではソートロジックを見ることや、ソートモードと Limit を設定すること、そして、左右 2 方向の内どちらを優先するかを決めることができます (図 79)。選択されたコレクションチューブの種類は Sort Logic ウィンドウの左上にアイコンとして表示されます。2 方向のロジックが重複している場合初期設定では左ソートが優先となっています。本ウィンドウに表示されている数字はソートチャンバー内のコレクションチューブの位置番号を示しています。

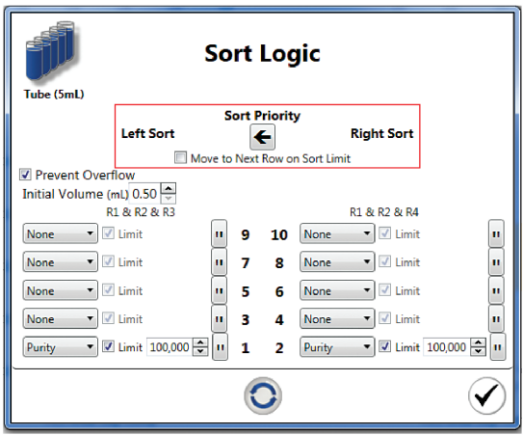


図 79 Sort Logic ウィンドウ:ソートの優先順位とソートモードがハイライト表示

6.2 ソートモード(Sort Mode)

表 30 は Sort Logic ウィンドウで設定する際の 3 種類のソートモードを示しています。ソートモードはソート方向/コレクションチューブ毎に設定することができます。

表 30 ソートモードの定義

ソートモード	定義	用途
Single Cell	本モードでは目的のポジティブイベントが液滴の中心にあり、かつ前後周囲にネガティブイベントが存在していない場合にソーティングを行います。純度最優先のモード。ソーティング制限が厳しいため、回収率は低下します。	qPCR や Digital PCR での定量のための、シングルセルの回収
Purity	液滴内に目的外のネガティブイベントが存在していない場合にソーティングされます。目的のポジティブイベントが複数存在する場合は、ソーティングされます	純度と回収率の両方が重要な標準的なソーティング
Enrich	目的外のネガティブイベントが付近に存在する/しないに関わらず、全ての目的のポジティブイベントがソーティングされます。高い回収率を確保するため、純度は低下します。	回収率が最重要で純度が重要でない場合のソーティング

6.3 統計データ(Sort Statistics)

ソート中、Sort Statistics ウィンドウを見ることができ、その中身を印刷用のレポートに取り込むことができます(図 80)。本ウィンドウはソーティングを開始すると自動的に表示されます。

保存された Partial FCS ファイルを開いた場合には、Aggregate Statistics を表示することができます:

1. File メニュー>Open FCS File with Protocol を選択します。
2. Home タブの **Sort Statistics** をクリックします。
3. 保存されたイベントだけではなく全てのイベントの統計情報を見るには「Show Aggregate Statistics」のチェックボックスにチェックを入れます。

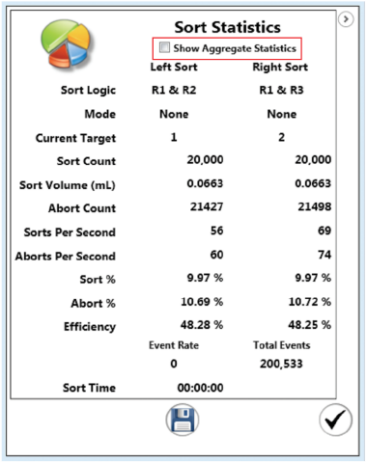


図 80 Sort Statistics ウィンドウ

表 31 は Sort Statistics ウィンドウに表示されるソート統計データの種類を示しています。各統計値はソートストリーム(ソート位置)に固有です。Sort Statistics ウィンドウは印刷のため、ワークスペース内に置くことができます。Sort Statistics ウィンドウ内の統計値は FCS ファイル内に保存されています。

表 31 Sort Statistics ウィンドウに表示される統計データ

項目名	定義
Sort Logic	ソートロジック:目的細胞集団(ポピュレーション)の特定に使用する領域
Mode	ソートモード:左右にソーティングする際のソートモード(Singe/Purity/Enrich)
Current target	現在ソーティングされているコレクションチューブ位置番号
Sort Count	ソート数:現在のコレクションチューブにソートされた目的細胞集団の数
Sort volume(ml)	ソート容量:各チューブ/ウェルにソートされた容量:ソーティング前に予め充填されていたバッファー・培地を含まない量
Abort count	アボート数:アボート(排除)されたポジティブイベントの数
Sorts per second	ソート数/秒:毎秒ソート数

Aborts per second	アボート数/秒：毎秒アボート数
Sort%	ソート割合%：総イベント数に対するソートされたイベント数の割合(%)
Abort%	アボート割合%:総イベント数に対するアボートされたイベント数の割合(%)
Efficiency	ソート効率：総ポジティブイベント数(ソートされたイベント＋アボートされたイベント)に対するソートされたイベント数の割合(%)
Event rate	イベントレート(eps):ソーティング中のリアルタイムな 1 秒当たりのイベント数
Total events	総イベント数：ソーティング中に検出した総イベント数
Sort time	ソーティング経過時間

Sort Statistics ウィンドウの右上の矢印をクリックすると追加の情報が表示されます（図 **81**）。ウィンドウが横方向に拡大されて各チューブの表が表示されます。コレクション数は最大で 5 チューブ/方向 x 2 方向＝10 です。本情報は、ウィンドウの右下の保存ボタンを押すとタブ区切りテキストファイルとして保存され、エクセル等で開くことができます。本情報は自動的に FCS ファイルに保存されます。

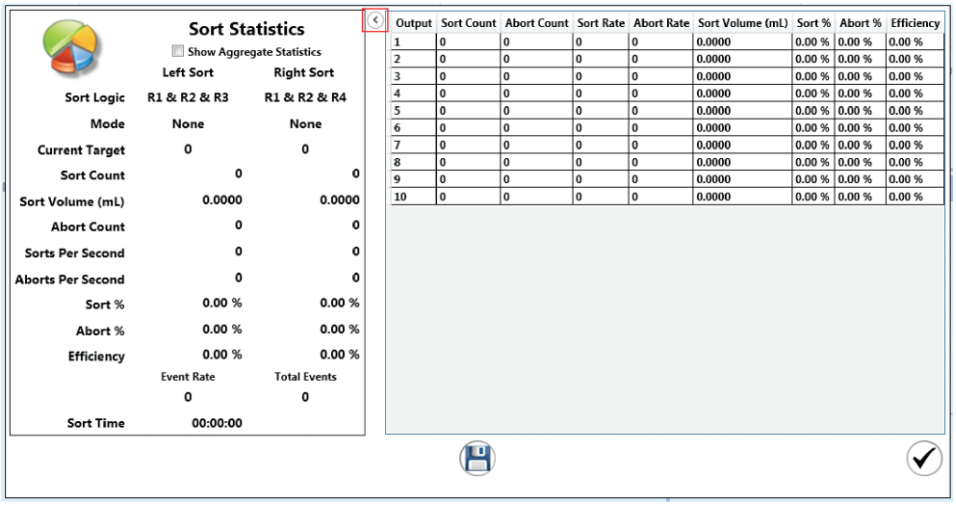


図 81　Sort Statistics ウィンドウ：クリックして追加情報を表示

6.4　ソートプロット(Sort Plots)

ソーティング中にプロトコールにソートプロットを追加することができます。このプロットはコレクションチューブ（ウェル/スライドスポット）当たりのソートされたカウント数とアボートされたカウント数をグラフ表示します。この棒グラフ（図 **82**）は Sort Statistics ウィンドウ（図 **80**）に対応しています。プロット横軸の 1-10 の数字は Sort Logic ウィンドウ（図 **79**）で割り当てられたソート位置の番号です。ソートプロットには領域(region)を設定することができます。ソートプロットに設定された領域は他のヒストグラムやデンシティープロットに適応（Apply）することができます。

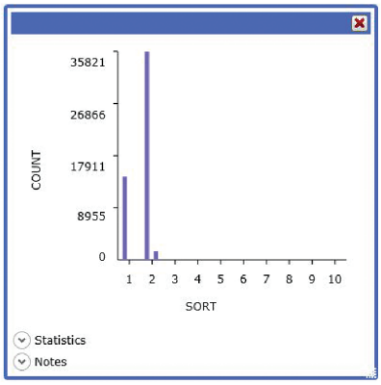


図 82 Sort Plot(ソートプロット)ウィンドウ

7 第 7 章－その他のソフトウェア機能
(Additional Software Features)

7 その他のソフトウェア機能(Additional Software Features)

ProSort™ ソフトウェアは下記の機能を備えている分析とソーティングのソフトウェアです。

7.1 脱泡(Debubble)

スタートアップ時、システム内に混入した空気を抜くために脱泡(Debubble)ステップが自動的に作動します。時にノズルに気泡が入り、ストリームに乱れが生じる場合には Setup and Maintenance タブの **Debubble** をクリックするとシステムのリンスが行われ、ノズル内から空気が抜かれます。この時、ストリームをモニターすることも可能です。

7.2 詰り除去(Unclogs)

流路系の詰りは様々な問題によって生じます。詰りが発生すると、エラーが表示され、サンプル流・ソートが停止し、ソート済のサンプルは詰まりの影響を受けないように待機位置へと移動します。

詰りが起こった場合、Setup and Maintenance タブの **Unclog** を最初に使用します。S3 システムはノズルをバックフラッシュして流路に詰まった異物を廃液タンクへ押し流します。Unclog がうまくいったら、**Debubble** を数回実施してノズル内の空気を排出します。

重要！

分析中の詰り防止のため、ソーティング直前にサンプルをフィルターに通して、シングルセルサスペンションにするようにしてください。また、フィルターは 40 μm 以下のものを使用してください。

7.3 スワップチップ(Swap Tip)

Unclog を実施してもシステムの詰まりが解消しない場合には、Setup and Maintenance タブの **Swap Tip** ボタンを使用して Swap Tip ウィザードを起動します。Swap Tip ウィザードはノズルチップ交換作業の各ステップを順にグラフィカルにユーザーに説明して実行する機能です。このウィザードはノズル調整が必要な場合やノズルのクリーニングが必要な場合も使用します。

ノズルチップの交換方法の具体的な手順についてはセクション **10.4「Swap Tip**(ノズルチップ交換)ウィザード」をご参照ください。上記の機能で問題を解決できない場合は、弊社テクニカルコールに相談ください。

7.4 システム洗浄(Clean System)

サンプル間もしくはユーザーを切り替える(ログインし直す)時、低圧もしくは高圧で洗浄を行うことができます。高圧洗浄では液滴(Droplet)は維持されないため、洗浄後にソーティングをする場合は QC を再度実行する必要があります。サンプル間の洗浄の場合には、低圧洗浄(Low Pressure Clean)を推奨します。このボタンではシャットダウン操作やログアウト時と同じようにラインが洗浄されます。

システム洗浄(Clean System)を実行するには:

- 5ml チューブに 3ml 以上のクリーニング溶液を入れます。
- クリーニング溶液の入ったチューブをサンプルポートにセットして、ローディングステージを分析位置に移動します。
- Setup and Maintenance タブの Clean System ボタンをクリックします。
- クリーニングを行うための確認ウィンドウが表示されます。クリーニングを行う場合には Yes を選択します。(図 **83**)

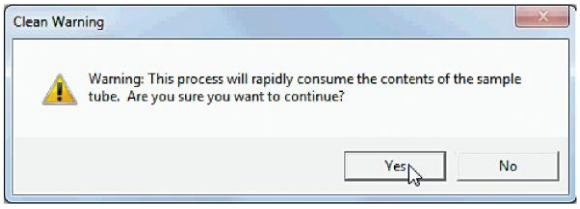


図 83 クリーニングプロトコール確認画面

■ 表示されたウィンドウで High Pressure Clean(高圧洗浄)もしくは Low Pressure Clean(低圧洗浄)のいずれかのモードを選択し、チェックマークボタンをクリックします(図 84)。

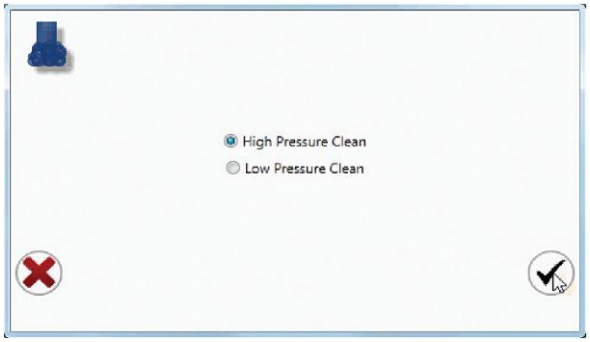


図 84 洗浄モード選択画面

■ 洗浄確認画面で Yes をクリックするとシステム洗浄が始まります(図 85)。

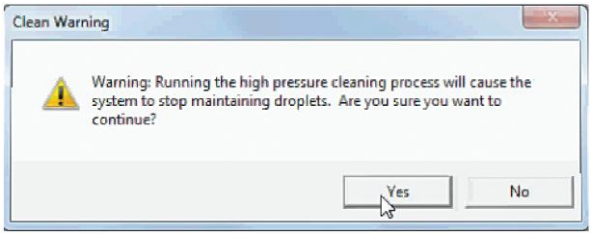


図 85 洗浄確認画面

■ 洗浄が終了するとウィンドウ(図 86)が表示されますので、ローディングステージを洗浄位置に戻します。

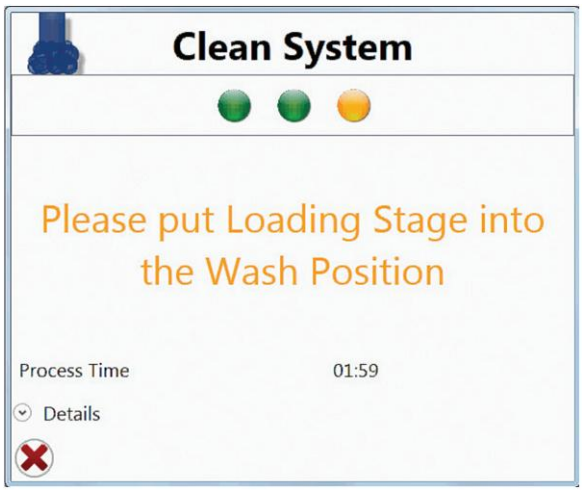


図 86 Clean System 最終画面

ウィンドウが消えるとシステム洗浄のプロセスが完了します。High Pressure Clean を選択した場合には、洗浄後はソーティング前に ProLine キャリブレーションビーズを使用して QC を実行する必要があります。

7.5 機器状態ボックス(Instrument Status Box)

機器状態ボックスは Instrument Control(機器制御)パネルの下部に配置されており、S3 システムの状態を表示します。機器状態ボックスの状態表示と色の種類は機器の状態によって異なります。表 32 は状態表示と色の種類を示しています。

表 32 機器状態ボックスの表示内容と色

色	画面表示	アクション	例
灰色	OFF	なし	オフ(OFF)
緑	Ready	準備完了:分析/ソーティング開始可	分析/ソーティング (Acquiring/Sorting)
黄色	Information	情報:先に進む前に要求されているアクションを行うこと。	要 QC テスト(Require QC) 送液タンク液量低/高
橙	Warning	警告表示:システムは継続して稼働	キャリブレーション中 (Caribrating)
赤	Error	エラー表示:要メンテナンス	液滴が維持されない (Not maintaining droplets)

7.6 ステータスバー(Status Bar)

ステータスバーは ProSort ソフトウェアウィンドウの一番下に配置されています。ここにで表示される情報は 8つあります。 (図 87)。表 33 に状態インジケーターの内容を示してあります。

図 87 ステータスバー:8 個のインジケーターを表示

表 33 インジケーター情報の内容

番号	内容
1	ソフトウェアと機器の接続状態
2	今日の日付
3	温度制御状態
4	イベントレート(イベント数/秒))
5	合計イベント数
6	経過分析時間
7	経過ソート時間
8	現在使用(ログイン)中のユーザー

7.7 印刷(Prining)

File メニューと Setup and Maintenance タブには印刷ボタンと印刷プレビューボタンが含まれています(図 88)。印刷レイアウト内でヒストグラム又はデンシティープロットを移動する時は **Preview** ボタンを使用します。印刷プレビューではプロトコールに適用する領域(Region)の位置も変更できます。位置変更後、**Print** ボタンを押すと印刷ダイアログが現れるので、そこでプリンターと用紙を選ぶことができます。このページには Sort Statistics データ、フィルターコンフィギュレーション、注釈(annotations)及びコンペンセーションマトリックスも含めることができます。

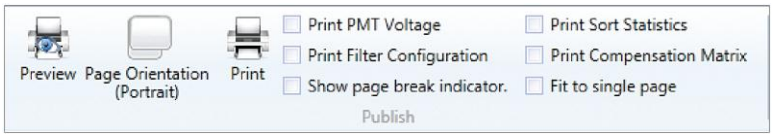


図 88 印刷オプション(Setup and Maintenance タブ)

7.8 品質管理レポート(Quality Control Reports)

S3 システムの性能管理には 2 種類のレポート機能を使用することができます。一つは QC テストの結果と液滴の情報を表示する Daily QC Report です（図 **90**)。過去の記録を見る時は、見たい記録の日付を指定します。QC テストが同じ日に複数回行われている場合は、Time ドロップダウンリストから希望の QC レポートを選択します。レポートに含まれている QC データのファイルを開く時は、レポートの一番下中央の Open FCS File ボタンをクリックします。本レポートは印刷することもできます。

もう一つのレポートは PMT 電圧、CV、及ドロップドライブの振幅(amplitude)と周波数(frequency)について、一定期間内のトレンド(傾向)を表す QC Trending レポートです(図 **89**)。本レポートにはコメントを追加することができ、印刷することもできます。

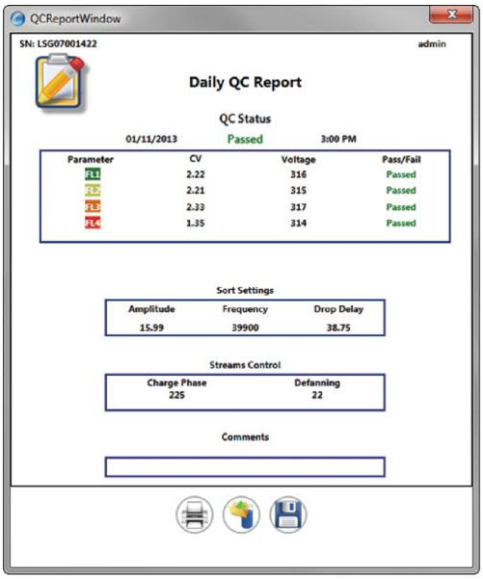


図 90 Daily QC Report ウィンドウ

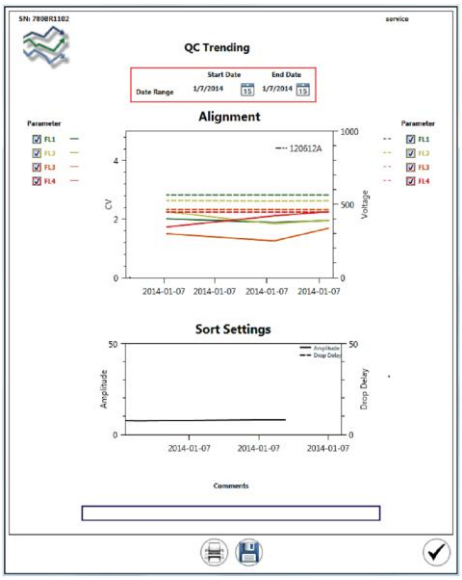


図 89 QC Trending レポートウィンドウ

7.9 ユーザーレポート (User Reports)

ユーザーレポートはアドミニストレーター(管理者)のみにアクセス権限があるレポートであり、一定期間内のシステム使用状況をモニターするためのレポートです(図 **91**)。本レポートは印刷することができ、ログイン時にユーザーが入力したセッションノートも含まれています。

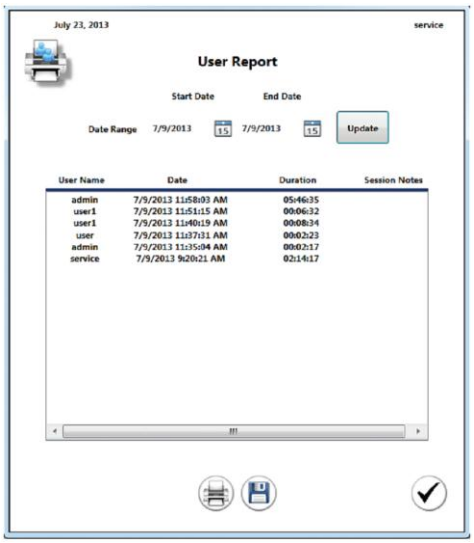


図 91 User Report ウィンドウ

7.10 BioSafety システム (BioSafety System)

S3™ BioSafety システムは S3 及び S3e システム用に設計されたエアロゾルを封じ込めするためのバイオハザード対策用クラス I キャビネットです。ProSort ソフトウェアはセルソーティング中に発生するエアロゾルから実験環境と使用者を防護するための機能を提供します。

S3 BioSafety システムは ProSort ソフトウェアに統合されており、ソフトウェアから HEPA フィルター寿命、システム内部温度などの情報をリアルタイムでモニターして表示します(図 **92**)。エアロゾルの封じ込めを維持するためにファン速度はセルソーティング動作モードと HEPA フィルターを通る空気流量に基づき自動的に調整されます。

S3 BioSafety システムは米国国立衛生研究所(NIH:National Institutes of Health)の定めるクラス I バイオセーフティーキャビネット基準並びに ISAC(International Society for Advancement of Cytometry)ガイドラインのエアフロー基準に適合しています。

より詳細な情報は第 11 章 S3 BioSafety システムをご参照ください。

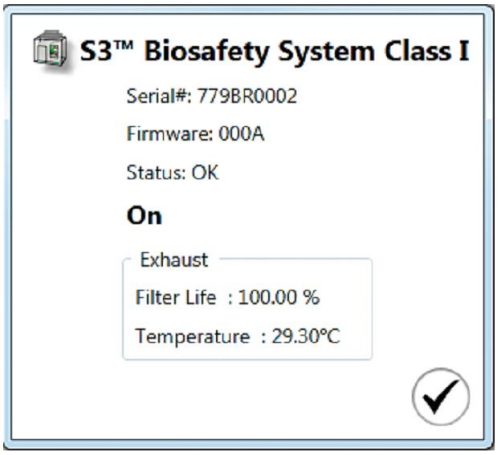


図 92 S3 BioSafety システムクラス I ステータスウィンドウ

重要!

BioSafety システムは S3 及び S3e システムが内部に設置されている時は常に電源をオンにしておく必要があります。セルソーターは使用していない時はソフトウェアからシャットダウンを実行するとアイドルモードになります。この状態で維持しておく必要があります。

S3 及び S3e システムの電源がオンの状態で S3 BioSafety システムの電源をオフにすると過熱の恐れや火災の危険性が生じます。

以下のいずれかの状況が発生した場合は、S3 及び S3e セルソーターはサンプル分析もしくはソーティングを停止し、ユーザーに警告を表示します:

- HEPA フィルターを介した空気流入量が必要な下限を下回った場合
- フィルター寿命(Filter Life)が0%に達した場合
- ProSort ソフトウェアが S3 本体と通信できなくなった場合

上記が原因で停止した場合にはソフトウェアは上記の原因が解決されるまでサンプル分析・ソーティングの実行ができなくなります。

Swap Tip 作業をする場合、ビニールのフロントパネルを持ち上げて、ノズルドアにアクセスできるように BioSafety システムの上部フィルターハウジングを磁石で固定することができます。この状態では S3 BioSafety システムはエアフローが低減されて、システムは Class I 封じ込めがあるとは見なされません。

重要!

HEPA フィルターを通過するエアフローが Class I 封じ込めの必要限度を下回った場合には、ソフトウェアは警告表示を行い、すぐに分析・ソーティングを停止します。

第 8 章－シャットダウン(Shutdown)

8 シャットダウン(Shutdown)

8.1 一日の終わりのシャットダウン作業(Daily Shutdown)

S3 及び S3e システムは一日の終わりにシャットダウンしてください。シャットダウン操作により液滴形成、チャージ、レーザー、及び、ストリームの全てが停止します。停止操作には DI 水によるリンス作業も含まれています。

重要！

エタノールや漂白剤を使用する時は実験室の安全ルールに従って必要な個人防護具(PPE:Personal Protective Equipment)を着用すること。

注: シャットダウン操作を中止する場合にはダイアログの X ボタンをクリックします。

注: ユーザーがソフトウェアからログアウトを選択した場合にも強制クリーニング(force cleaning)を実行することができます。この手順はシャットダウン手順と同様ですが、違いは自動スタートアップウィンドウが表示されないことと、本体内のエア抜き、システムシャットダウンが行われないことです。

シャットダウン手順:

1. ローディングステージが洗浄位置にあることを確認します。
2. Setup and Maintenance タブの **Shutdown** ボタンをクリックすします。シャットダウンを確認するウィンドウが表示されます(図 **93**)。

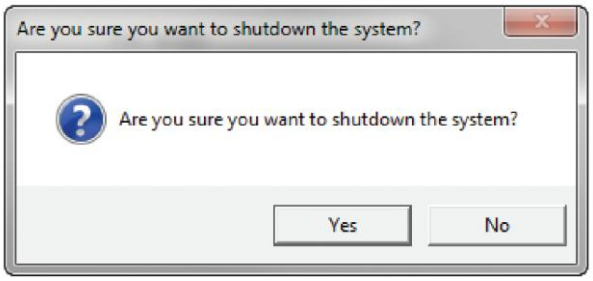


図 93 シャットダウン確認ウィンドウ

3. **Yes** をクリックしてシステムのシャットダウン操作を行うことを確認します。

注: 保存されていないプロトコールが残っている場合、保存せずに終了した場合にその変更が失われる旨の警告ウィンドウが表示されます (図 **94**)。

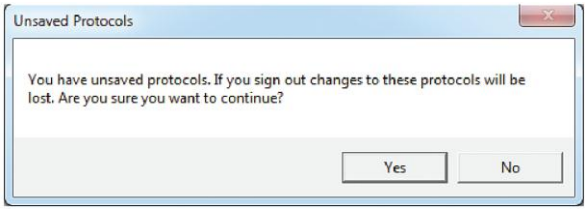


図 94 保存されていないプロトコールについての確認ウィンドウ

4. プロトコールを保存しない場合は **Yes** をクリックしてシャットダウンを継続します。プロトコールを保存する場合は、**No** をクリックしてシャットダウンを中止します。

この後、自動スタートアップウィンドウが表示されます。この画面では、作業の簡単化と効率アップのため、システムを自動的にスタートさせることができるタイマー設定をすることができます。(**図 95**)

5. 自動スタートアップを行う場合には Yes を選択して、日付と時間を入力します。

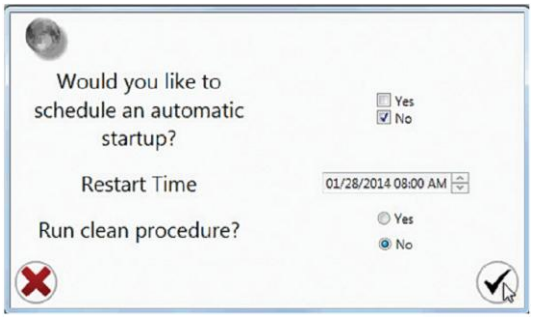


図 95 自動スタートアップウィンドウ

クリーニング溶液(DI 水)の入ったチューブが入っていない場合にはチューブを入れるようにウィンドウが表示されます。(図 **96**)

6. クリーニング溶液の入ったチューブをサンプルポートにセットします。
7. ローディングステージを分析位置に移動します。

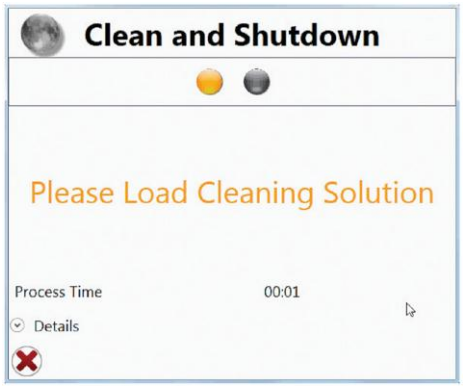


図 96 チューブをセットするように促す画面

8. システムはステータスウィンドウを表示しながら、自動的に洗浄を行います。この洗浄は約2分間かかります。(図 **97** 左)
9. 洗浄が終了したら、ローディングステージを洗浄位置に戻します(図 **97** 右)。

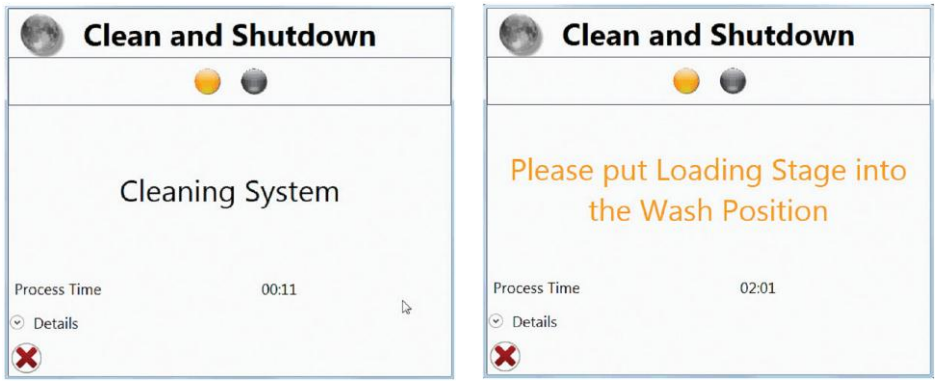


図 97 洗浄ステータスウィンドウ

洗浄が終了するとシャットダウンステップはハードウェア・流路系・エア抜きのシャットダウンを行います。この時、サンプルラインとサンプルチューブのバックフラッシュと洗浄を行い、最後に廃液ラインを洗浄します。(図 **98**)

その後、自動的にログアウトされます。自動スタートアップが設定されている場合にはカウントダウンが始まります。

図 98 シャットダウンステータスウィンドウ

重要！

一日の終わりには廃液タンクを空にし、シース・DI 水タンクを補充することを推奨します。自動スタートアップを行う場合、エラーを起こさずにシステムを正常にスタートできるように、廃液ボトルは空にして、8xシース液と DI 水のボトルは最低 2 時間分以上の量まで補充しておく必要があります。

10. 自動スタートアップを設定していない場合には、ソフトウェアを閉じ、Windows を終了します。

シャットダウンが完了するとログイン画面に戻り、システムは完全に停止し、次のスタートアップまでスタンバイモードとなります。

第 9 章－自動スタートアップ(Automatic Startup)

9 自動スタートアップ

ProSort™ を使用してシステムの自動スタートアップをタイマー設定することができます。自動スタートアップの場合、ストリームのアラインメントの一次チェックと詰まりの有無が確認され、問題がある場合は、ストリーム飛散とオーバーフローの防止のためにストリームを自動的に停止させ、警告が表示されます。この場合、問題解決のためシステムを手動でスタートさせる必要があります。

9.1 自動スタートアップの設定(Scheduling an Automatic Startup)

自動スタートアップの設定を行う場合、下記の 3 つの方法があります。

1. Startup ボタンを使用する(スタート予約がない場合)（図 **99**)。セクション 4.3「日常のスタートアップ」をご参照ください。
2. シャットダウン時に次回のスタートアップを予約する。(図 **100**) セクション 8.1「一日の終わりのシャットダウン作業」をご参照ください。
3. 除染(Decontamination)操作時に次回のスタートアップを予約する。(図 **101**) セクション 10.7「除染」をご参照ください。

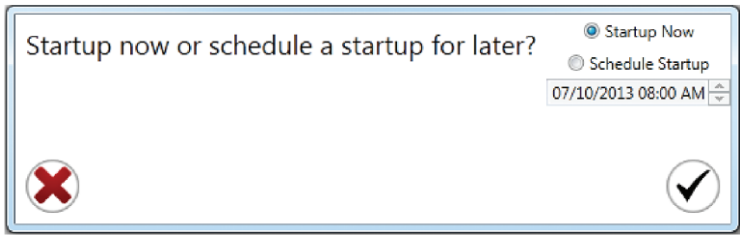


図 99 スタートアップ予約画面

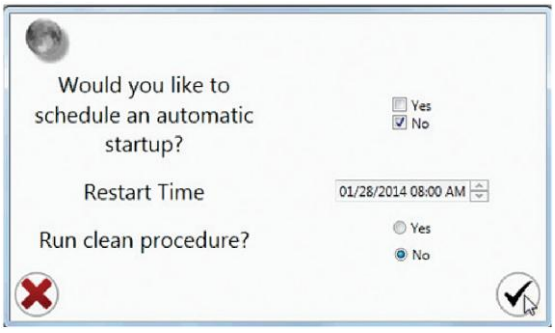


図 100 シャットダウン時に表示される自動スタートアップ設定画面

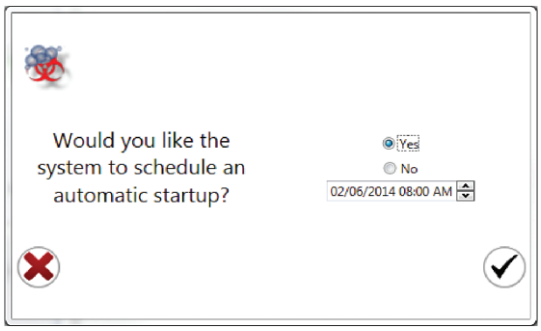


図 101 除染(Decontamination)時に表示される Automatic Restart ウィンドウ

9.2 直前の自動スタートアップ予約(Previously Scheduled Automatic Startups)

デスクトップの ProSort ソフトウェアアイコンをダブルクリックすると、ログインウィンドウが表示されます。前回のユーザーが自動スタートアップを予約している場合、ログインウィンドウの下にタイマーが表示されます(図 102)。このタイマーは自動スタートまでの残り時間を表示しています。

注: 自動スタートアップ設定を見るにはソフトウェアにログインする必要があります。

図 102 ログインウィンドウ: 自動スタートタイマーが表示されている

自動スタートアップ予約がされた状態でログインすると、Auto Startup Scheduled ウィンドウが表示されます(図 103)。

この時点では下記の 3 つのボタンを実行することができます。これらのオプションを使用して自動スタートアップ予約をそのままにするかキャンセルするかを指定することができます。

図 103 Auto Startup Scheduled ウィンドウ

警告! 予約をキャンセルすると、その他のユーザーの予定にも影響することがあります。キャンセルする場合は、他のユーザーの予定も確認した上で行ってください。

表 34 Auto Startup Scheduled ウィンドウ上のボタン機能

ボタン	コマンド	機能
	キャンセル	自動スタートの予約をキャンセルします。自動スタートアップがキャンセルされた旨を示すメッセージがログイン画面に表示されます。
	サインアウト	現在のユーザーをログアウトし、自動スタート予約をそのまま実行します。
	割込み許可	自動スタートの予約をそのままにしておきながら、その間に別の分析を行います。予約の時間を変更することもできます。

第 10 章－メンテナンス(Maintenance)

10　メンテナンス(Maintenance)

薬品を扱う時は、以下の通り、実験室の安全ルールに従って必要な個人防護具(PPE)を着用すること。

10.1　一般的メンテナンス(General Maintenance)

10.1.1　日々のメンテナンス(Daily)

サンプルラインは、システムシャットダウン時に必ず洗浄を行ってください。サンプルライン用クリーナーについてはセクション 10.6「消毒試薬」をごをご参照ください。

システムの日々のシャットダウン操作はソフトェア経由で行ってください。正しい手順でシャットダウンしなかった場合は、ソフトウェア―機器間の通信障害や、サンプルライン、ノズル、流路系等の汚染につながる危険があります。

自動スタートアップのオプションを使用している場合は、エラーを起こさずに正常にスタートできるように、シャットダウン後は廃液タンクを空にして、シース/DI 水タンクを補充してください。

10.1.2　毎週のメンテナンス(Weekly)

週に一度、希釈した消毒薬を使用して機器を拭くこと。ソートチャンバーと偏向板に溜まった塩の結晶を除去してください。

コレクションチャンバー内のカメラウィンドウに破片や塩が付着していないか確認してください。必要に応じて綿棒や希釈した消毒薬を使用してクリーニングして下さい。

10.1.3　毎年のメンテナンス(Yearly)

S3 セルソーターの保守契約プラン(PM)をご契約頂くことを推奨します。保守契約プランにはサービスエンジニアによる年に一度の現地訪問点検が含まれています。

保守契約作業点検項目:

- インラインシースフィルターの交換
- インライン DI フィルターの交換
- シースタンクと DI タンクのフィルターの交換
- 空気ポンプフィルターの交換
- インラインフィルターの交換
- リンスフィルターの交換
- 光学フィルターのクリーニング
- ノズルの交換
- チューブとコネクターの検査
- システムチェック
- 光学系統のアラインメントの検査と調整

10.2　詰り(Dealing with Clogs)

分析中又はソーティング中にノズルが部分的に、または完全に詰まってしまうことが発生する場合がありますが、これは主にフィルターを通していないサンプルの中の細胞凝集塊が原因となって発生する現象です。ノズルに詰まりが発生した場合、ストリームは真っすぐ流れなかったり完全に止まったりします。詰りを除去する方法にはいくつあります。以下に、詰りの除去方法を簡単なものから順に記載します。クリーニングが済んだら、スタートアップボタンをクリックしてストリーム流を再開し、異物が除去されていることを確認してください。

10.2.1　Unclog (Unclog Option in Software)

詰りは気を付けないと発生しやすく、流体系統に様々な問題を引き起こします。ソーティングの前には詰りを予防する観点から直前にフィルターを通してシングルセルサスペンションにすること。また、フィルターは 40 μ m 以下のものを使用してください。詰りが起こった場合、最初に Setup and Maintenance タブの **Unclog** ボタンをクリックします(図 **15**)。この機能により S3 及び S3e システムはノズルをバックフラッシュして異物を取り除き、廃液ボトルに回収します。

Unclog によって詰まりが除去されたら、Debubble を数回実施してノズル内に混入した空気を除去します。

Unclog で詰まりが解消されない場合は、セクション 10.2.2「クリーニング溶液をサンプル分析する」又はセクション 10.4「ノズルチップ交換ウィザード」を参照し実施してください。

10.2.2　クリーニング溶液をサンプル分析する(Run Sample of Cleaner)

70%エタノール又は 10% 次亜塩素酸ナトリウム溶液をサンプルポートから流すことにより、詰りを取ることができます。この場合、サンプルローディングポートから上記のクリーナー溶液を供給します。クリーニング溶液は異物を落とす、又は、浮かせてラインとノズルを異物のない、きれいな状態に戻すことができます。

これで詰まりが解消された場合は、テストサンプルの分析を始める前に、タッチロック液晶を用いて洗浄サイクルを 2 回以上行ってください。

まだ詰まりが解消されない場合は、ノズルチップを交換します(セクション 10.4)。

10.3　ノズルチップのクリーニング又は交換(Cleaning or Replacing Nozzle Tip)

ノズルは流路系の重要な構成要素の一つであり、安定したシース流の提供やサンプル流の絞り込みを実現し、液滴作成とチャージを担う部品です。また、ノズルチップはレーザー照射点にシース流をセンタリングする役割を果たし 100 μ m のチップ口径で固定されています。ノズルチップは取り外して詰りを除去することができます。ノズルにアクセスする時は上部手前のスライド式のカバーを開けてください(図 **2**)。

注: このカバーはインターロックになっており、開けるとレーザーが自動的に消灯するようになっています。

注: 下記のいずれの手順を実施する場合でも、Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザードを使用すること。本ウィザードはノズルの交換とクリーニングをサポートする機能です。本ウィザードはさらに、システムを再スタートして、アラインメントを行う機能も実装しています。

10.4　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード(Swap Nozzle Tip Wizard)

本ウィザードはノズルの交換又は取外し作業の手順をステップごとに案内します。各ステップで表示される案内をよく読んで作業を進めてください。

作業スペースを確保できるように、機器周辺をきれいにかたづけてから実施してください。必要に応じてノズル位置を調整します。ノズルを扱う時は清潔な手袋を着用してください。

まず、どのノズルシステムがインストールされているのか確認します(表 35)。

表 35　セルソーターとノズルシステム

Catalog #	Cell Sorter	Nozzle System	Proceed to Section
145-1001, 145-1002	S3 Cell Sorter	Agilis	10.4.1
145-1001, 145-1002	S3 Cell Sorter (upgraded with AutoGimbal™ feature)	AutoGimbal	10.4.2
145-1005, 145-1006, 145-1008	S3e Cell Sorter	AutoGimbal	10.4.2

10.4.1 Agilis システムのノズルチップ交換ウィザード（Nozzle Tip Wizard with the Agilis System）

Agilis システムはソフトウェアによって制御されている 2 軸のモーター化された位置決め装置を内蔵しています。これらのマイクロモーターによってストリームとピンホール、およびストリームとレーザーのアライメントを合わせます。また、3 つのジンバルネジがついており、ピンホールやストリームレーザーに合わせてノズルの高さをマニュアルで調整するようになっています。

アライメントの調整を始める前に、ノズルチップを取り外して洗浄し、元の位置に付け直す作業が必要です。チップを付け直した後はストリームがウェストホール(waste hole)に入っていることを確認してください。

ノズルチップ交換作業:

1. Setup and Maintenance タブの **Swap Tip** をクリックしすると Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザードが表示されます(図 **104**)。ウィザードが示す案内に従ってください。
2. S3 本体上部手前のノズルチャンバードアを開けます。
3. 黒色の金属板(レーザー光保護用)の左側を押して持ち上げます。
4. ウィザードを参考に蝶番部のねじを確認してください。
5. ノズルが持ち上るまで蝶ねじを回します。ノズルチップが見える状態になります。
6. **青矢印**ボタンをクリックします。

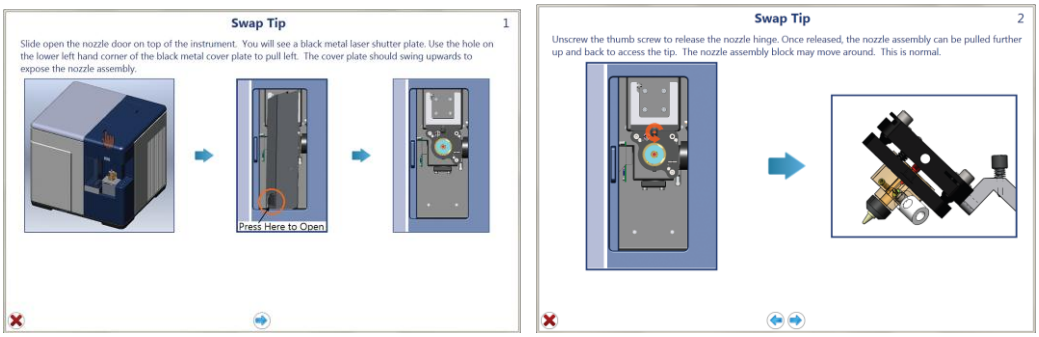


図 104　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

7. 機器内部にノズルが落下しないようキムワイプ等のリントフリーの紙をチャンバー内のノズル下に置きます。
8. ノズルを固定している黒いカラーを回して緩め、外します。

   注: 小さな黒い O-リングが付いているので失くさないよう注意すること。
9. 小さな白いノズルチップを引き出します。

超音波処理を行う場合：

10. DI 水が入っているチューブの中にチップを入れます。
11. チューブにキャップを取り付けます。
12. チューブを超音波処理装置に数分間入れ、洗浄します。
13. ステップ 14 に進みます。

超音波処理を行わない場合：

10. エタノール入りの 1ml シリンジを使用してノズルチップの先端からエタノールを注入します。100μm チップ先端側とノズル反対側の端両方からエタノールをシリンジで押し出してチップの詰りを除去します。
11. シリンジで押した際にノズルから出るストリームを確認します。ストリーム(流線)はチップから真っすぐ伸びていなければなりません。
12. 必要なら、ストリーム(流線)が真っすぐになるまでクリーニングを繰返します。
13. ステップ 14 に進みます。
14. チップの黒いカラーの底が当たる位置に O-リングを取り付けます。
15. チップをノズルに戻します。チップの側面を持ってノズルに押し付けて取り付けます。先端には触らないでください（図 **105**）。
16. 黒いカラーを手で締まるだけ締めます。
17. チャンバー内に置いた紙を取り出します。
18. ステージを元の位置に戻し、蝶ねじを締めます（図 **106**）。
19. **青矢印**ボタンをクリックします。

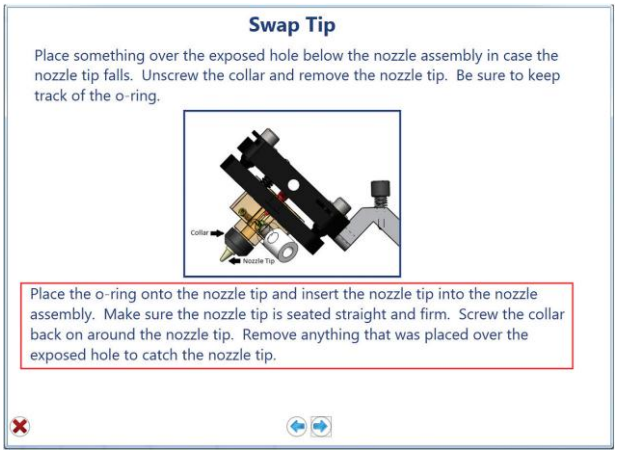


図 105 Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

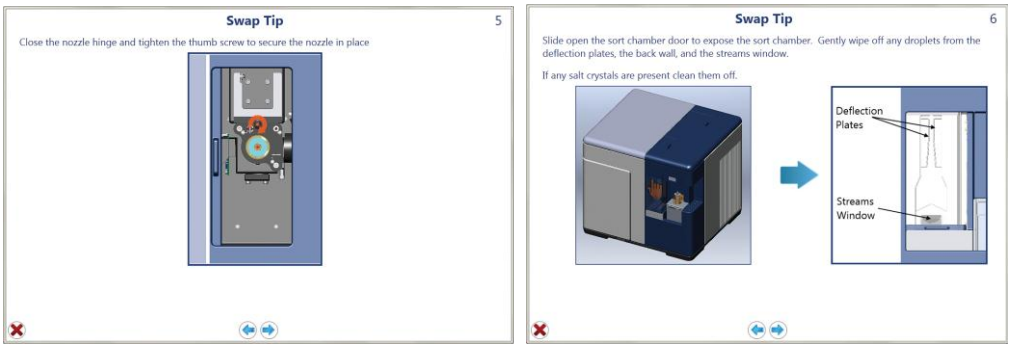


図 106　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

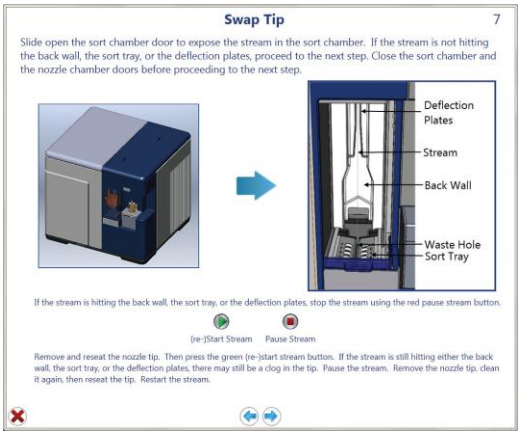


図 107　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

20.ストリームがソートコレクションエリア後方のウェストホールに入っていることを確認します(図 107)。

21.もしセンターストリームがウェストホールに入っていない場合は、ノズル上部の黒いブロック部分を動かしながら、おおよそのアラインメント(位置調整)を行います。

注:ノズルステージの左上の六角ネジはノズルを左右に動かします。右下の六角ネジはノズルを前後に動かします。

22.これらの六角ネジとアクセサリーキットに含まれている六角レンチを使用してノズル位置を微調整することができます(図 108)。

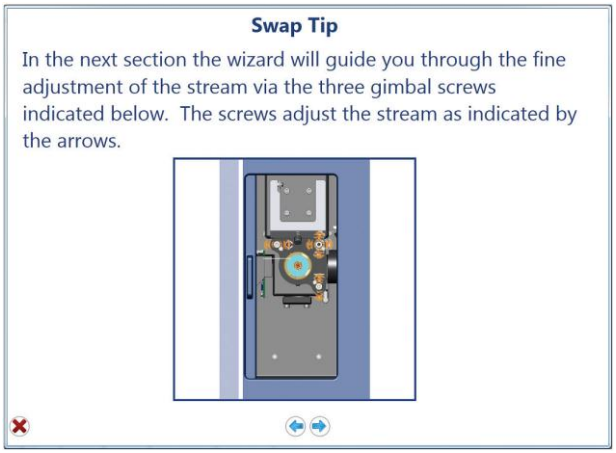


図 108　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

図 109　Nozzle swap ウィザードウィンドウ

S3 システムはマイクロモーターを使用してストリームとピンホール/ストリームとレーザーの位置調整を行います。位置調整中、ピンホール、液滴及びストリームの 3 つのカメラ画面が表示されます（図 **109**）。マイクロモーターによってノズルステージが移動してストリームの焦点が調整されます。

23. ハイライトされている六角ネジをウィザードの指示に従って六角レンチで回します。

24. ネジを回す回転数を数え、ストリームが一番明るく見える位置を目視で確認します（図 **110**）。

最適位置に調整されると、六角ネジの周りの矢印が消えます。明るいストリームが得られない場合、又は矢印が消えない場合は、次のステップに進んでください。後から調整することが可能です。

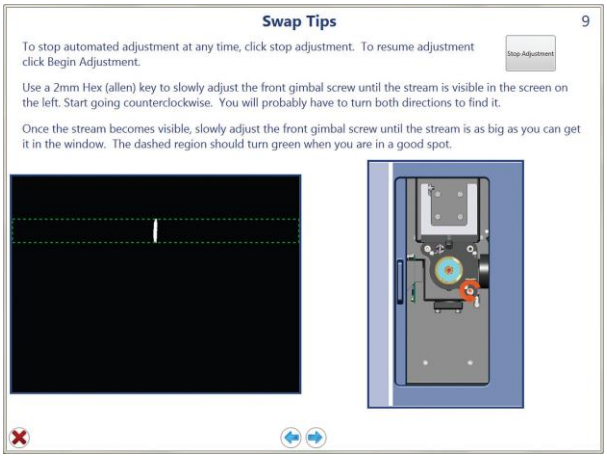


図 110　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

ストリームのアラインメント作業はストリームカメラ画像に表示されます。前後方向と左右方向にスキャニングしながらストリームをセンタリングし、ストリームに当たるレーザー光量を最適化します。

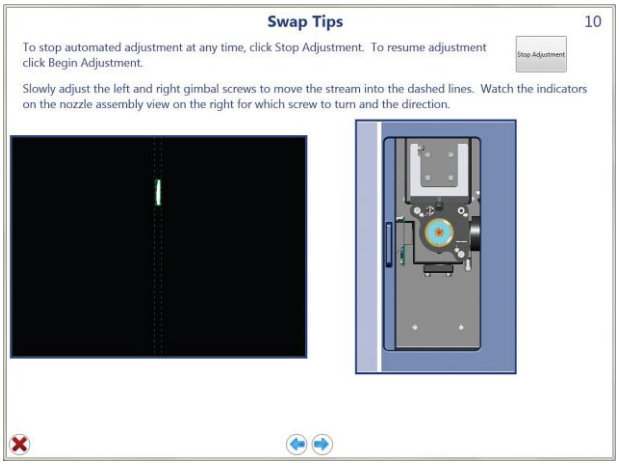


図 111　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

25. ウィザードに表示されている矢印をモニターします。ストリームが最適に調整されると、矢印が消えます(図 **111**)。

26. 3 つの六角ネジを使用してノズルを上下して、橙と黄色の線が重なって緑に変わる位置にノズルを調整します(図 **112**)。

注: ストリームの調整が完了すると、画面上のボックスの色が黄色から緑に変わる。

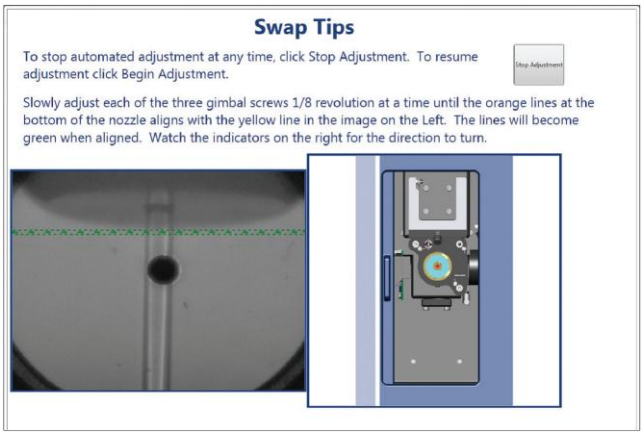


図 112　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

再度、マイクロモーターによりストリームの位置調整がされ、ストリームがピンホールとストリームレーザーそれぞれの最適位置に調整されます。3 つのカメラの画像が再度表示され、ストリームの焦点がマイクロモーターによって再度調整され、完全な位置調整(アラインメント)が得られます。

図 **113** はストリームの画像(左と中央)とノズルカメラ(右)を示しています。ノズルの底の部分は緑の二点鎖線で示されています。

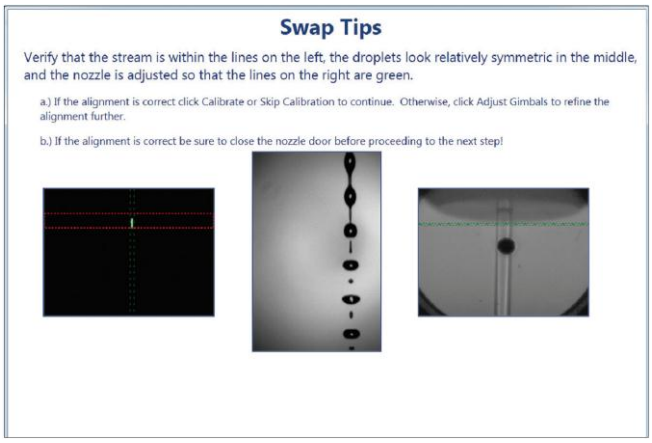


図 113 Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

ウィンドウには六角ネジでの調整を繰返す、もしくは液滴のキャリブレーションに進む、のいずれかを選択するためのダイアログが現れます。ストリームのセンタリングが完全で、そして、ノズルの点線が緑になっている場合は、液滴のキャリブレーションに進むことができます。

27. ノズルドアを閉めます。

28. 液滴のキャリブレーションを行い、QC テストを実行します(図 **116**、図 **117**)。

液滴のキャリブレーションが始まる前に最終確認のため、ストリーム位置確認のためのウィンドウが現れます(図 **114**)。図 114 の赤丸で囲ったボタンをクリックするとピンホールカメラ画面に切り替わります(図 **115**)。

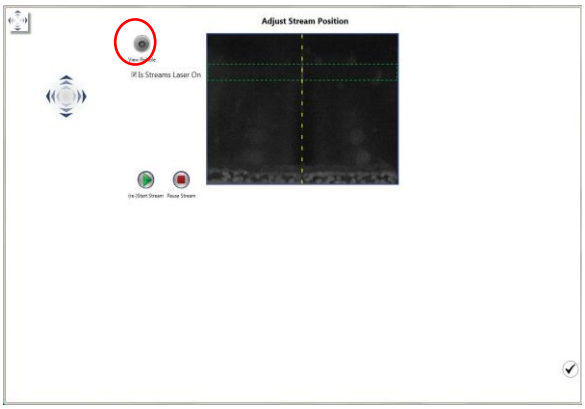


図 114　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

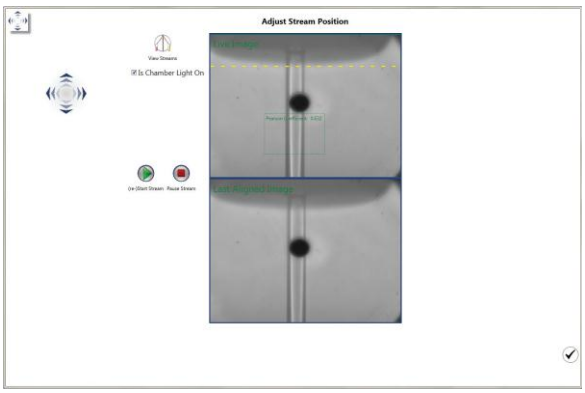


図 115　ストリーム位置調整ウィンドウ-ピンホールカメラ画像

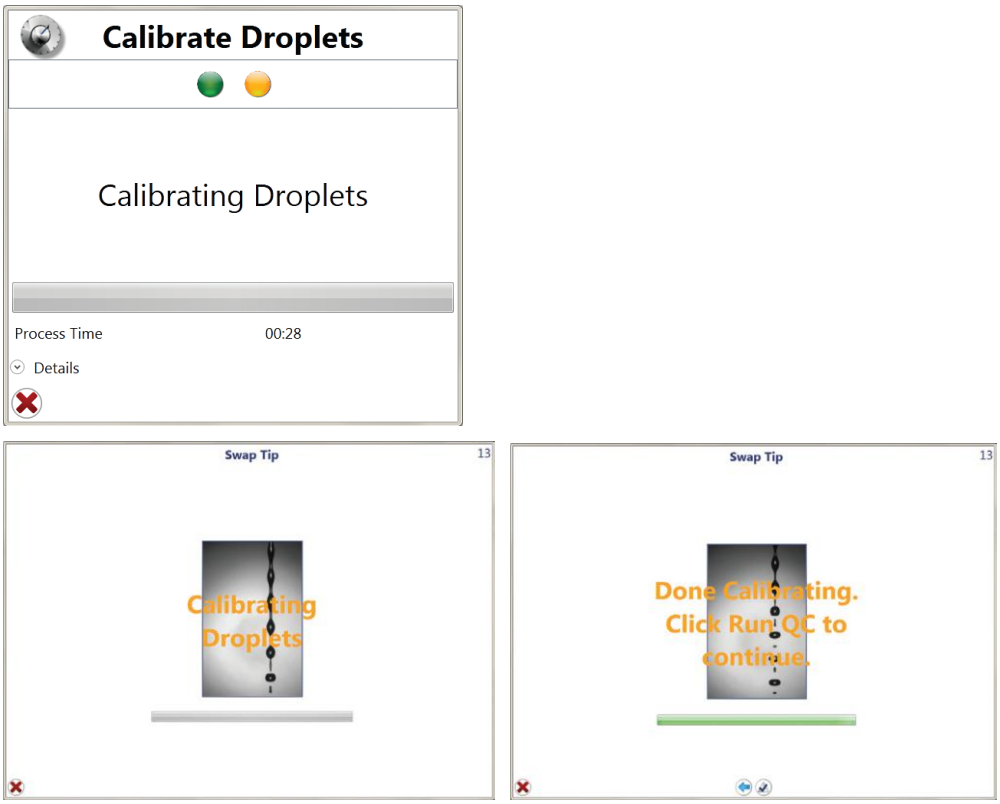


図　116 液滴キャリブレーションウィンドウ

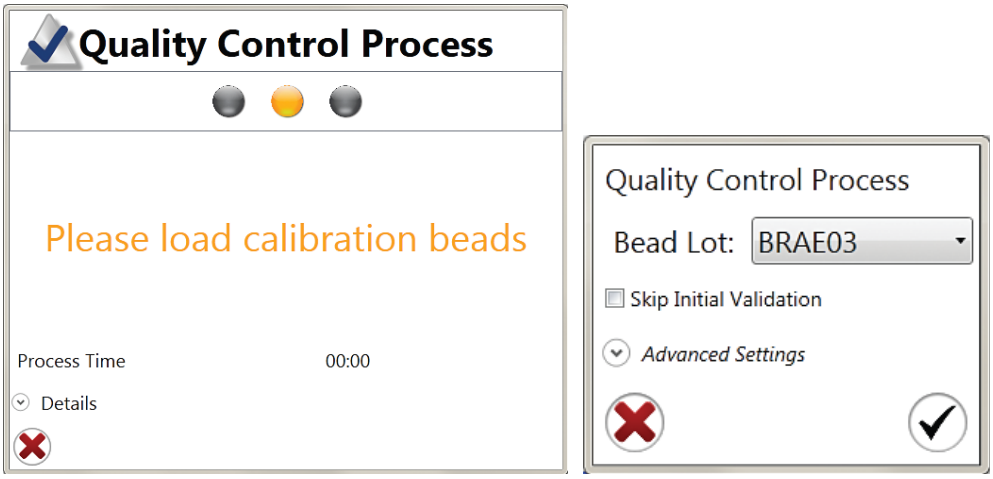


図　117 QC ウィンドウ

10.4.2 Autogimbal システムのノズルチップ交換ウィザード(Nozzle Tip Wizard with AutoGimbal System)

AutoGimbal システムは光学系に対してストリーム位置が最適になるようにアライメント調整を完全自動化したシステムです。この技術によって再現性が向上し、マニュアルで行う必要があった微調整の必要がなくなりました。AutoGimbal システムでは 5 軸のピコモーターを使ってストリームとピンホール、ストリームとレーザーのアライメント調整を行います。マイクロメートルレベルの微細な動きはソフトウェアによって制御されていて、カメラのプロセス画像を用いてストリームと光学系の最適位置を計算します。

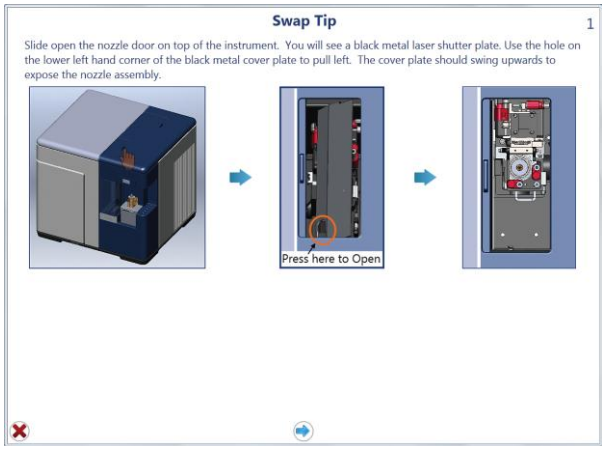
AutoGimbal によるアライメント調整を始める前に、ノズルチップを取り外して洗浄し、元の位置に付け直す作業が必要です。AutoGimbal の工程が問題なく完了するためにはソートチャンバーの壁やソートトレイ、および偏向版にストリームが当たっていないことが重要です。

ノズルチップ交換作業:

1. Setup and Maintenance タブの **Swap Tip** をクリックしすると Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザードが表示されます(図 **118**)。ウィザードが示す案内に従ってください。
2. S3 本体上部手前のノズルチャンバードアを開けます。
3. 黒色の金属板(レーザー光保護用)の左側を押して持ち上げます(図 **118**A)。
4. ノズルステージについている金属のハンドルを持ち上げてステージを上向きにします(図 **118**B)。
5. 機器内部にノズルが落下しないようキムワイプ等のリントフリーの紙をチャンバー内のノズル下に置きます。
6. ノズルを固定している黒いカラーを回して緩め、外します(図 **119**)。

   注: 小さな黒い O-リングが付いているので失くさないよう注意すること。
7. 小さな白いノズルチップを引き出します。

A



B

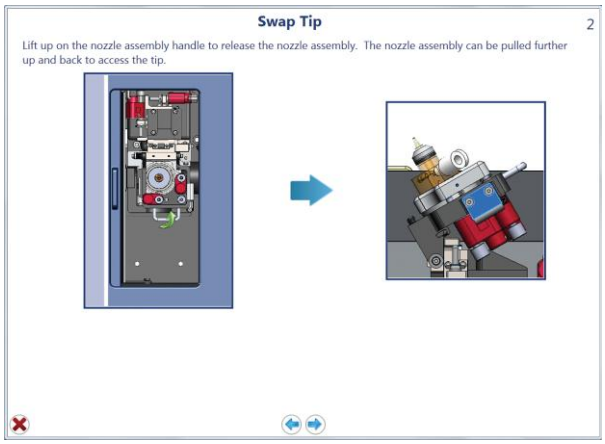


図 118 AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

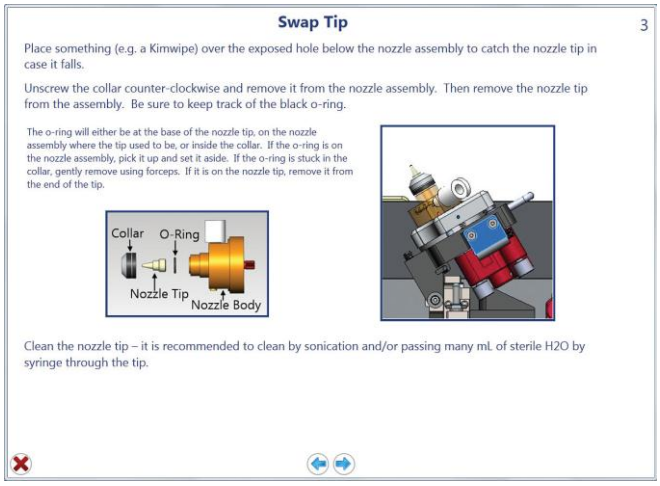


図 119 AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

ノズルチップの洗浄：

ノズルチップの詰まりは目に見える場合と見えない場合があります。シリンジ洗浄によって詰まりが解消される時もありますが、通常は超音波洗浄を行って詰まり除去を行います。詰まり具合によっては洗浄を何回か繰り返して行う必要があります。

超音波洗浄：

8. DI 水が入っているチューブの中にチップを入れます。
9. チューブにキャップを取り付けます。
10. チューブを超音波処理装置に入れ、10～30 分洗浄します。
11. 超音波洗浄の後にシリンジ洗浄を行います。

シリンジ洗浄：

12. エタノール入りの 1ml シリンジを使用してノズルチップの先端からエタノールを勢いよく注入します。
13. ノズルの反対側から同様にエタノールをシリンジで押してチップの詰りを除去します。
14. 詰まりが取れるまで両端から交互にエタノールで洗浄を繰り返します。
15. シリンジで押した際にノズルから出るストリームを確認します。ストリーム(流線)はチップから真っすぐ伸びていなければなりません。
16. 必要なら、ストリーム(流線)が真っすぐになるまでクリーニングを繰返します。
17. チップの黒いカラーの底が当たる位置に O-リングを取り付けます（図 **120**）。
18. チップをノズルに戻します。チップの側面を持ってノズルに押し付けて取り付けます。先端には触らないでください。
19. 黒いカラーを手で締まるだけ締めます。

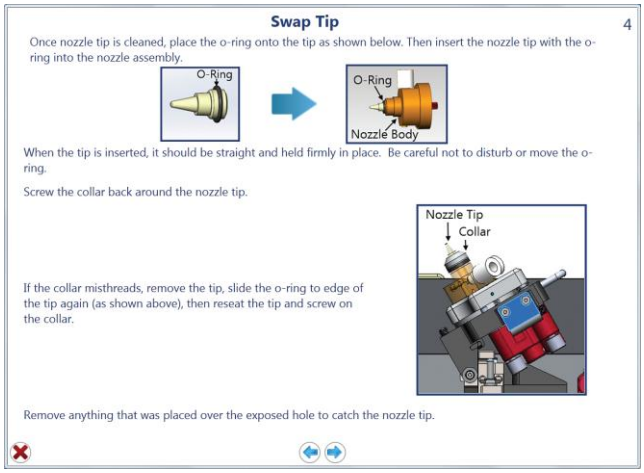


図 120　AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

20. チャンバー内に置いた紙を取り出します。

21. ステージを元の位置に戻します。ノズルステージは元の場所にパタンと閉まります(図 **121**)。

22. 青矢印ボタンをクリックします。

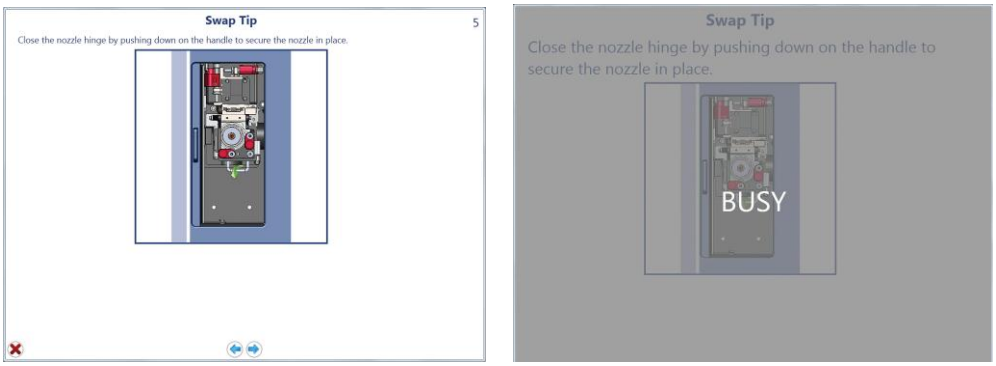


図 121 AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

23. ソートコレクションチャンバーのドアを開けます。

24. ソートチャンバー内の後方の壁、ソートトレイ、偏向版及びストリームカメラのウィンドウに水滴がついていないか確認し、必要に応じてクリーニングします(図 **122**)。

25. ストリームがソートコレクションエリア後方のウェストホールに入っていることを確認します。入っている場合はステップ 39 に進みます。もしストリームが後方の壁やソートトレイ、もしくは偏向板に当たっている場合はノズルチップをもう一度取り外し、付け直します(図 **123**)。

注: デバブルサイクルが実行されて動作音がします(図 **124**)。

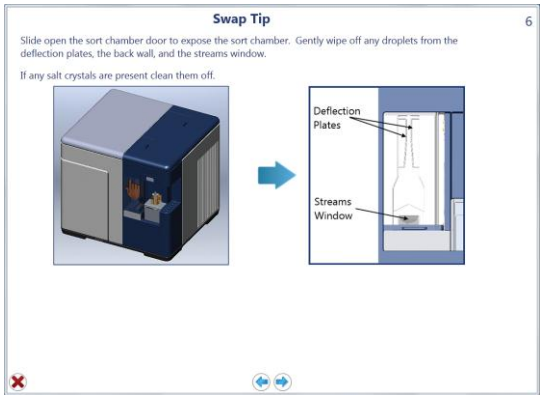


図 122　AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

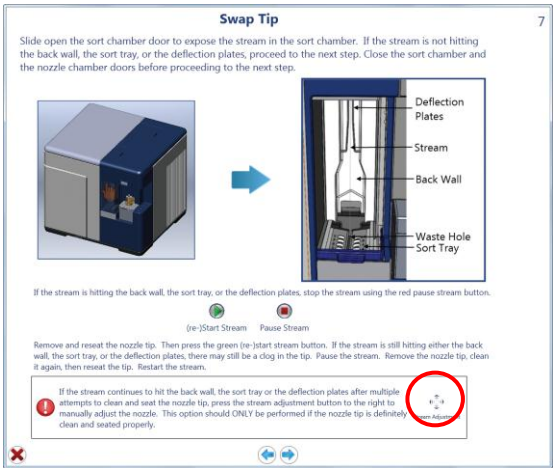


図 123　AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

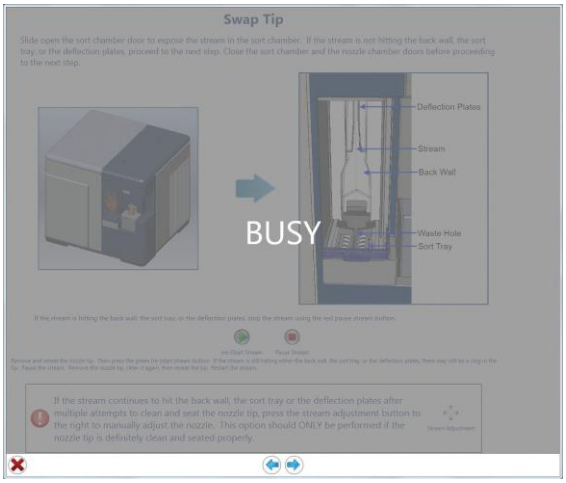


図 124　AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

26. ノズルチップを付け直してもまだストリームが後方の壁やソートトレイ、もしくは偏向板に当たっている場合はステップ 28 に進みます。

27. ストリーム調整ボタン(stream adjustment)をクリックします(図 **123** 下部赤丸)。

28. ストリーム位置調整ウィンドウが開きます(図 **125**)。

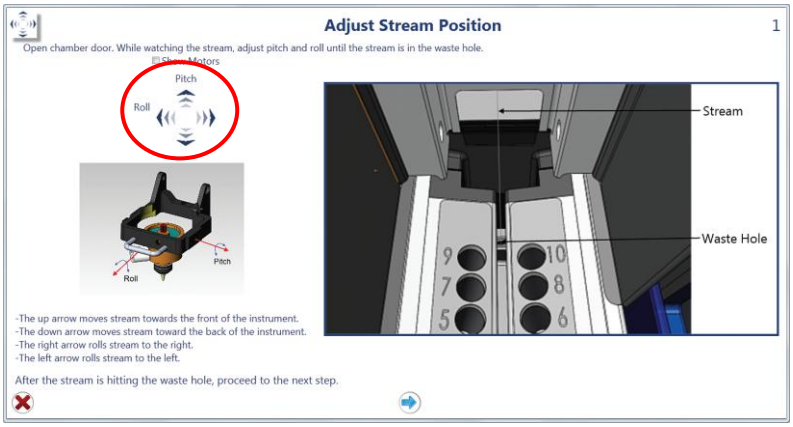


図 125　ストリーム位置調整ウィンドウ

29. Pitch と Roll ボタンを使い、ストリームがウェストホールに入るように調整します。大きく動かす時は外側のボタンを、微調整するときは一番内側のボタンを使います。

30. 青矢印ボタンをクリックして次に進みます。

31. ソートチャンバードアを閉めます。

32. Pitch と Roll ボタンを使い、画面の右側のカメラ画像でストリームの白い線が見えるようにストリーム位置を動かします(図 **126**)。

33. 赤い点線が緑色になるまで調整します。

34. 青矢印ボタンをクリックして次に進みます。

注: ストリームがストリームレーザーに当たると白く光って見えます。ストリームの位置がレーザーに対して最適な位置に来るにつれて白い部分が太くなります。

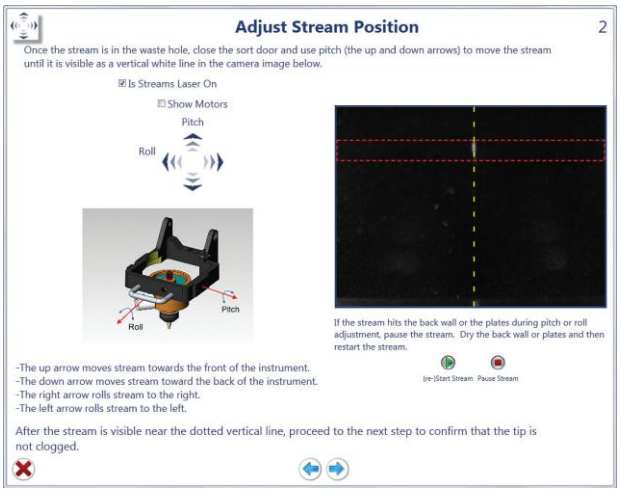


図 126　ストリーム位置調整ウィンドウ

35. Vertical, Horizontal, Focus ボタンを使ってノズルチップの位置調整をします。画面右側の下の画像は前回 QC をパスした時のノズル位置を示しています。下の画像と上の画像ができるだけ同じになるようにチップの位置を調節します(図 **127**)。

36. もしストリームが真っ直ぐに流れていない、もしくはまだノズルチップが詰まっていたらチップの洗浄を行い、ステップ1からの作業を繰り返してノズルを付け直します。

37. ノズルチップとストリームに問題がなかったらチェックマークをクリックして次へ進みます(図 **127** 赤丸)。

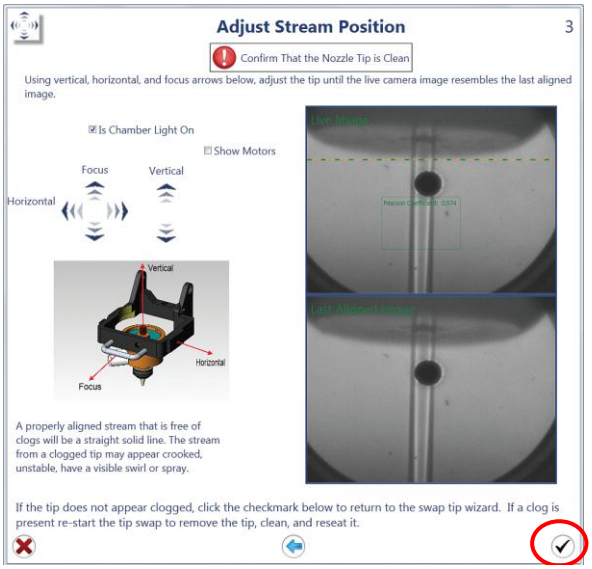


図 127　ストリーム位置調整ウィンドウ

38. AutoGimbal システムのノズルチップの位置と光学系に対するストリーム位置の自動調整が始まります。

自動調整中に実行中の工程を示すウィンドウが現れます。この工程は5～6分で終了します(図 128)。

図 128　自動調整中のウィンドウ

AutoGimbal システムによるアライメントの調整と最適な位置合わせが終了すると液滴のキャリブレーションと QC が自動で始まります。

39. 使用するビーズのロットファイルをドロップダウンメニューから選択してチェックマークをクリックします（図 **129**）。

40. 500uL の ProLine™ Universal Calibration または Proline Calibration ビーズを 5ml チューブに入れてサンプルポートにセットします（図 **130**）。

41. ローディングステージを分析位置に移動します。

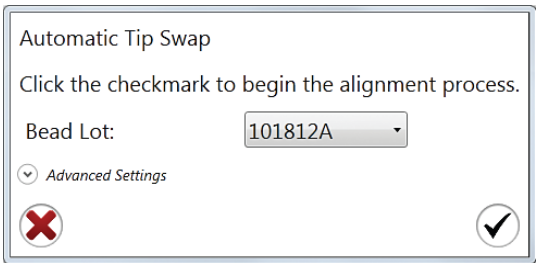


図 129　キャリブレーションビーズ選択ウィンドウ

図 130　AutoGibmal　Swap Tip(ノズルチップ交換)ウィザード

10.5　光学フィルターのクリーニング(Optical Filter Cleaning)

S3 及び S3e システムの光学フィルターはガラス面に異物、埃又は指紋が付くとその性能が損なわれます。これらの光学コンポーネントを点検し、定期的にクリーニングすることにより、システムを高性能な状態に維持することができます。フィルターのコーティングガラスはデリケートであり、慎重な取扱いが必要です。表面を傷つけると光の透過性能が大きく変化するので注意してください。

フィルターのクリーニングを行う時は、手袋をして油や粒子がフィルター表面に付着しないようにしてください。圧縮空気（ブロワーなど）を慎重に吹き付けながら、フィルター表面の大きな埃やゴミを除去します。次に、リントフリー布（レンズクリナーペーパー等)をイソプロピルアルコールで湿らせてフィルターの表面を優しく拭き、フィルターを光にかざして点検して、ゴミが完全に除去されていることを確認します。フィルターを S3 または S3e システムに戻します。

10.6　消毒試薬(Disinfectants)

消毒薬を扱う時は、以下の通り、実験室の安全ルールに従って必要な個人防護具(PPE)を着用してください。

サンプルラインの消毒薬(Disinfectants for Use in Sample Line)

- DI 水で希釈した 70%エタノール溶液
- 活性塩素最大濃度 5,800ppm のブリーチを 10 倍希釈した溶液。およそ 10%ブリーチ溶液。但し、サンプルの病原性によっては、さらに薄めて使用することができます。

シースラインの消毒薬(Disinfectants for Use in Sheath Line)

- 活性塩素 580ppm のブリーチ溶液を 100 倍希釈した溶液。およそ 1%ブリーチ溶液

廃液タンクの消毒薬(Disinfectants for Use in the Waste Container)

廃液タンクの消毒薬としては下記の薬品を使用できます。適量の消毒薬を廃液容器に入れ、容器内に残っている生物製剤を確実に不活性化させます。使用前に消毒薬の適合性を確認すること。

- 10%次亜塩素酸ナトリウム又は漂白剤

10.7　除染(Decontamination)

除染ツールにアクセスできるのはアドミニストレーター(管理者)だけです。除染ツールを使用するとシステムを完全に除染することができます。システムに使用されている全ての部品は家庭用漂白剤の 1%水溶液(活性塩素 500ppm)を使用することができます。

除染は 6 ヶ月毎に実施することを推奨しますが、定期的に毎月行うことも可能です。分析したデータのバックグランドレベルが極端に高く、原因が流路系内と考えられる場合は本除染ツールを使用してください。無菌操作技術を適用せずにサンプルを扱うとライン中にバクテリアや菌が繁殖する可能性があります。送液タンクは内部にフィルターを備えていますが、タンクが汚染源となる場合もあり得ます。

除染ツールを使用する:

1. ローディングステージを洗浄位置に移動します。
2. Administrator タブの **Decontaminate** をクリックします。

警告ウィンドウが現れ、除染ツールをスタートするかどうかの確認をします(図 **131**)。

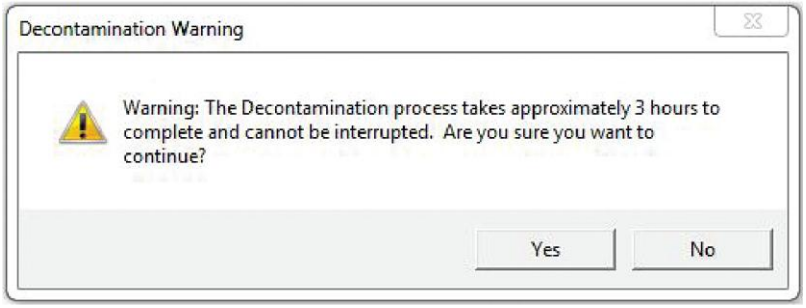


図 131　Decontamination Warning ウィンドウ

除染ツールがスタートします。表示に従って手順を進めてください。

3. 除染終了後にシステムを終了するかどうかを選びます(図 **132** 左)。
4. チェックマークボタンを押して先に進みます。
5. 自動スタートの予約を行うかどうかを選びます(図 **132** 右)。

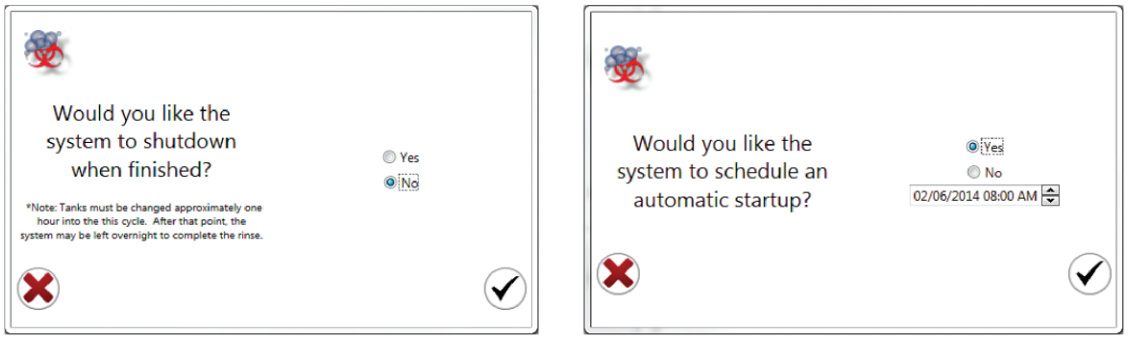


図 132　自動シャットダウン(左)/自動スタートアップ(右)ウィンドウ

6. 自動スタート予約を入れるなら、予約日時を入力します。
7. チェックマークボタンを押して先に進みます。
8. DI 水とシース液タンクを取り出し、1L 以上の除染溶液(1%ブリーチ)が入った容器をセットします(図 133)。
9. 廃液タンクを空にして交換します。
10. チェックマークボタンを押して先に進みます。

図 133　システムの除染(Decontaminate)の案内画面

内部シースボトルに入っていた溶液が自動的に廃液タンクに移され(図 134)、流路全体が除染用溶液で直接洗浄されます(図 135)。

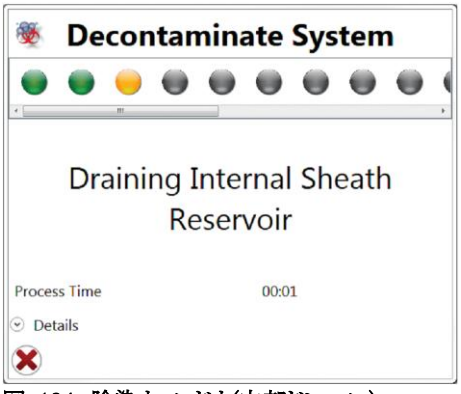


図 134　除染ウィンドウ(内部ドレーン)

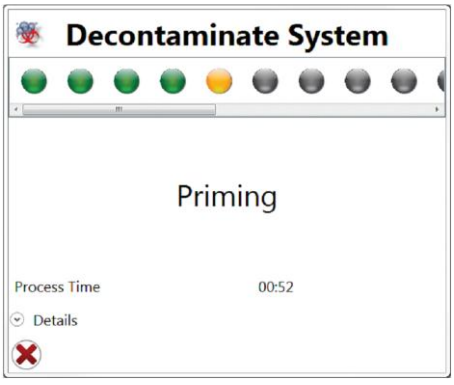


図 135　除染ウィンドウ(プライミング)

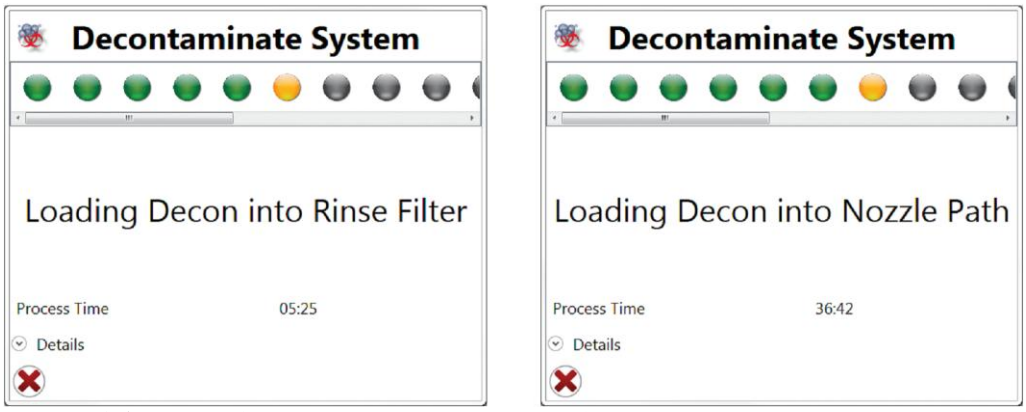


図 136　除染ウィンドウ(リンスフィルター/ノズルライン洗浄)

除染するためにシステムの流路をブリーチに置換します(図 136)。その後システムをシャットダウンします(図 137)。

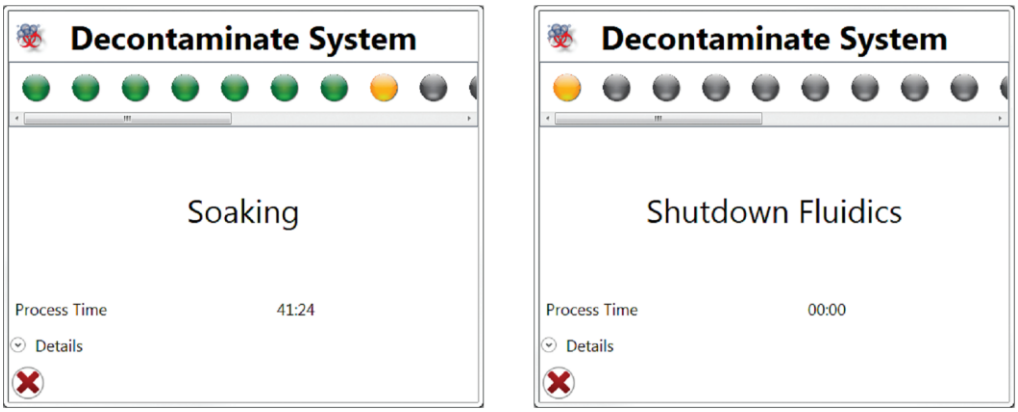


図 137　除染ウィンドウ(ブリーチ・シャットダウン)

システムがシャットダウンした後は除染用溶液のタンクを取り外すことができます。シース液及び DI 水キャップアッセンブリーは DI 水で洗浄してください。シースタンク及び DI 水タンクを適切な位置に戻します(図 138)。システムは 8x シース液及び DI 水を流路に導入する前に内部シースボトル内やシースフィルター内のブリーチを排水します(図 140)。除染後は高いバックグラウンドも解消されて測定の準備が整います。

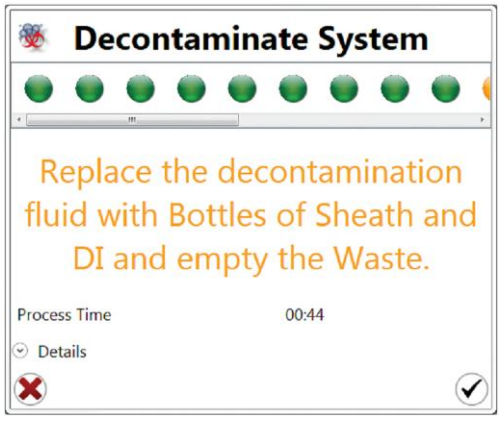


図 138　除染ウィンドウ(タンク交換)

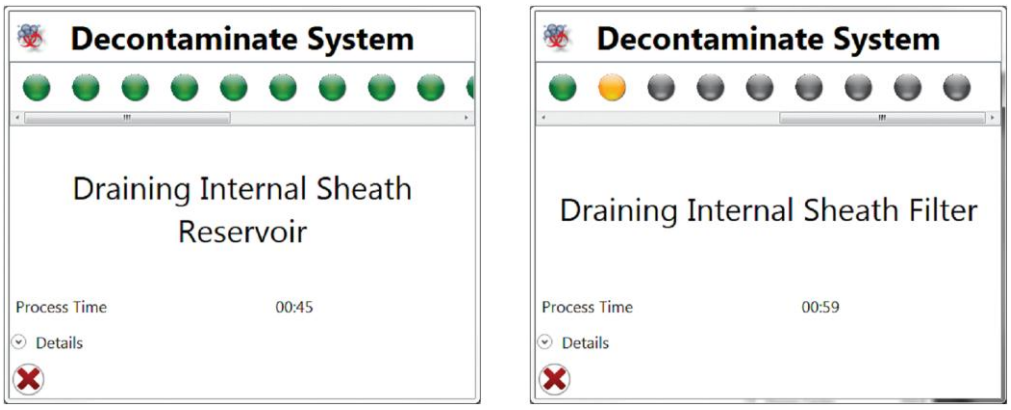


図 139　除染ウィンドウ（内蔵シースボトル・フィルターの排水）

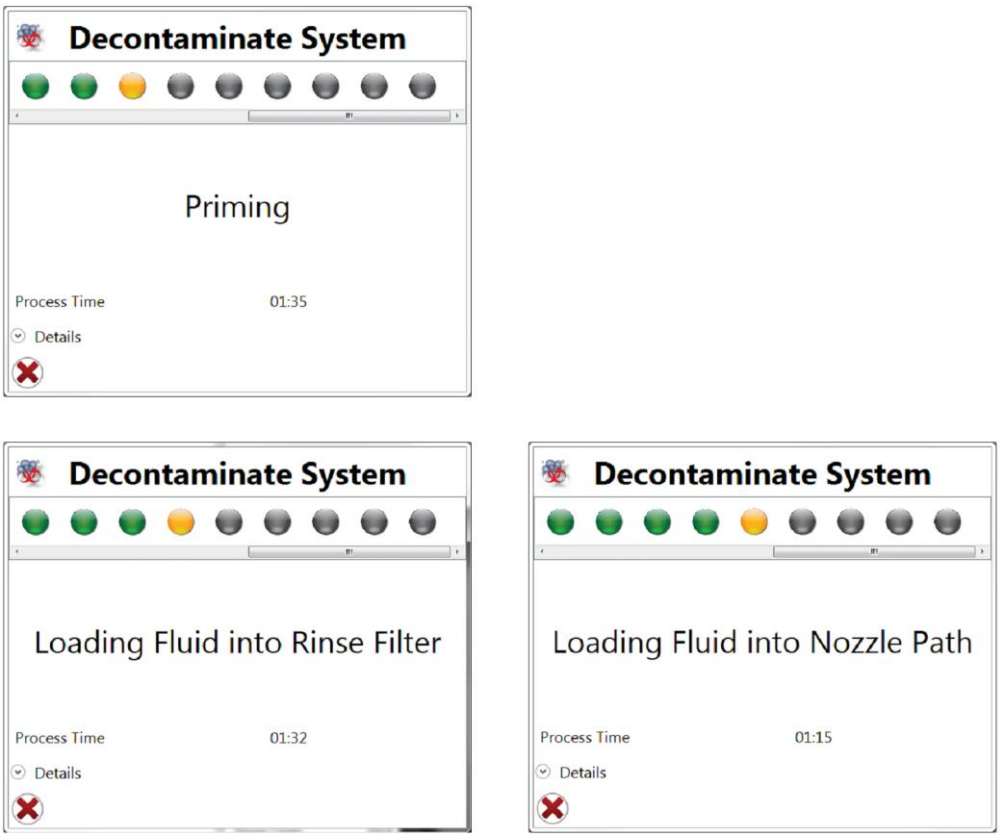


図 140　除染ウィンドウ（リンスフィルター・ノズル流路）

注：除染を始めてから約 1 時間後に容器を交換する作業があります。この作業が終了したらリンスとシャットダウンが終了するまで(夜間)無人運転が可能です。

システムの浸け置きが終わると、スタートアップ前に延長したウォームアップを開始します（図 141）。

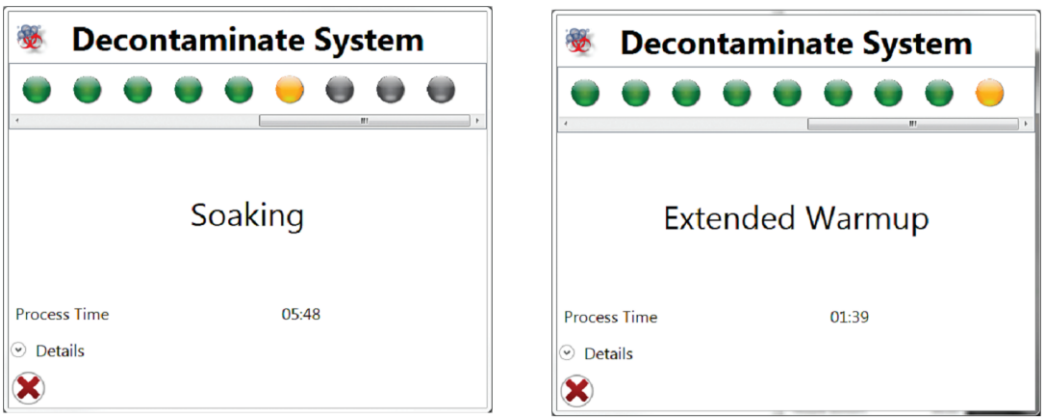


図　141　除染ウィンドウ（システムの浸け置きとウォームアップ）

除染終了後はサンプル測定の準備ができた状態になり、高いバックグランドレベルの改善が見られます。

シ

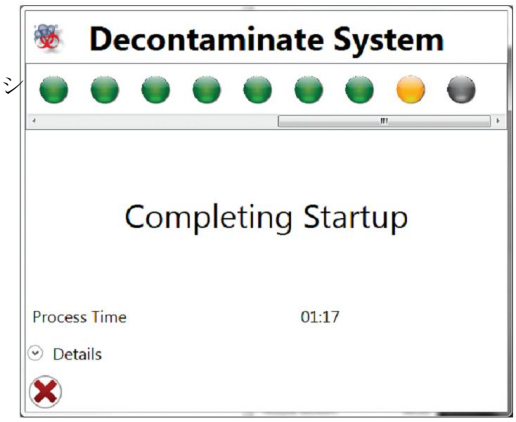
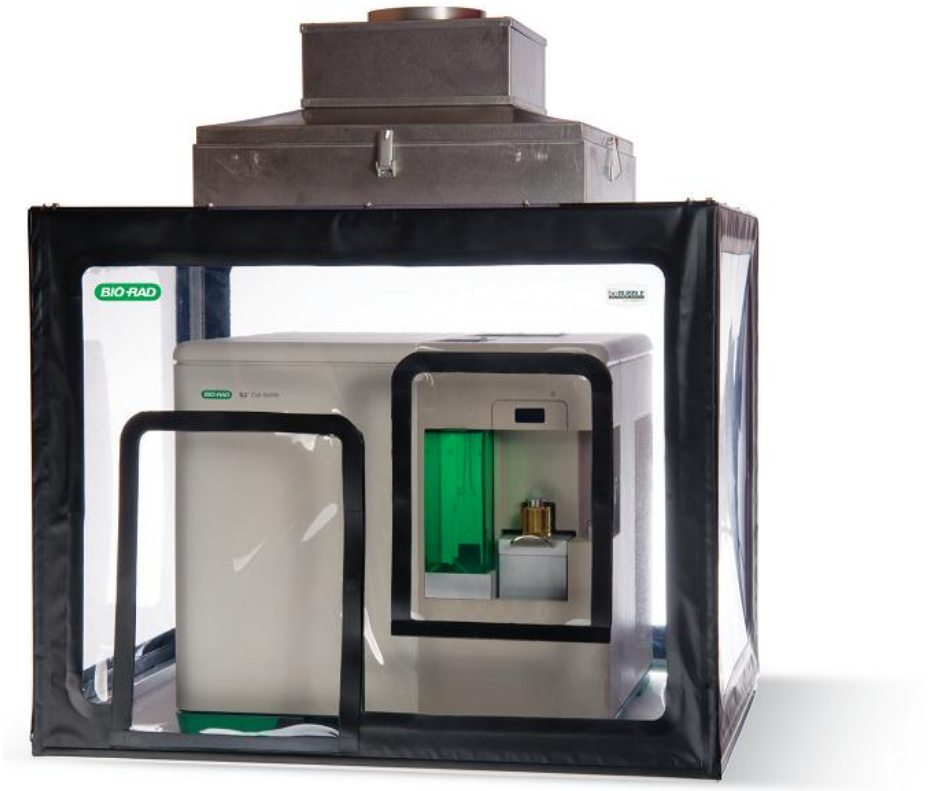


図　142　除染終了後のスタートアップ画面

第 11 章－S3 BioSafety システム Class Ⅰ

11 S3 BioSafety システム Class I



11.1 はじめに(Introduction)

S3™ BioSafety システムは、セルソーティング中に発生するエアロゾルから使用者と環境を保護するために ProSort ™ソフトウェアと連携して S3 セルソーターと共に動作するように設計された S3 セルソーター専用のバイオハザード対策用クラス I キャビネット(Class I biosafety cabinets)です。S3 BioSafety システムは、一般的なセルソーター用の大型で高価なバイオハザード対策用キャビネットに変わる手頃な価格のキャビネットです。
S3 BioSafety システムは小さく卓上型のため、S3 セルソーターのコンパクトさを損なうことなく補完します。
BioSafety システムは、セルソーティング、洗浄、メンテナンス、またはサービスのために S3 セルソーターの側面 4 面すべてから簡単にアクセスできるユニークなデザインになっています。
システムは、簡単に組み立てられ、必要に応じて(移動した場合、再認定が必要となります)移動させることができます。BioSafety システムの側面は、磁石でフレームに取り付られる重ビニールで構成されています。

S3 BioSafety システムは S3 セルソーター用ソフトウェアである ProSort ソフトウェアに完全に統合されており、ソフトウェアからモニターすることが可能です。ソフトウェアから HEPA(High Efficiency Particulate Air)フィルター寿命およびキャビネット内温度などの情報をリアルタイムで参照することができます。生物学的封じ込めを維持するために、BioSafety システムのファン速度はセルソーター動作モードと HEPA フィルターを通る空気流量に基づいて、自動的に調整されます。
専用のファンと HEPA フィルターからの低背圧が機器のエネルギー消費量を削減します。
HEPA エアジェネレーターは、S3 セルソーター周辺の空気の 100%交換を毎分 6～8 回行うことができる出力を持ちます。システムは、動作中であっても低振動と低動作音レベルを維持しています。

S3 BioSafety システムは米国国立衛生研究所(NIH:National Institutes of Health)の定める Class I バイオセーフティーキャビネット基準並びに ISAC(International Society for Advancement of Cytometry)ガイドラインのエアフロー(流入風速)基準に適合しています。

11.1.2 システム構成(System Componets)

S3 BioSafety システムには以下の構成品が含まれます(図 **143**):

- BioSafety 上部筐体とビニール製サイドパネル
- HDPE フロアベース
- HEPA エアジェネレーター(送風機)
- HEPA フィルター
- 筐体フレーム
- エアロゾル排気用ホース
- USB ケーブル
- 電源ケーブル
- 認定プロトコール(Certification Protocol)

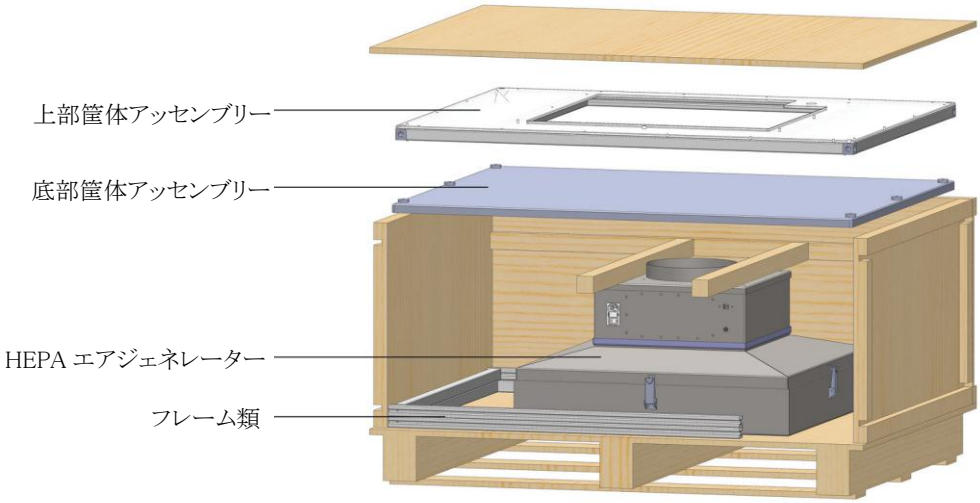


図 143 S3 BioSafety システム構成品

11.1.3 ハードウェア概要(Hardware Overview)

S3 BioSafety システムは以下の3つの構成要素を含みます(図 **145** と図 **145**):

- HEPA エアジェネレーター - 送風機。ファンがシステム内部空気を HEPA フィルターに吸い込み、システム外部へ排気します。
- 筐体 - ポリカーボネイトの上部とフレーム、並びにフレームに磁石で取り付けるビニールサイドパネル
- フロアベース - 高密度ポリエチレン製の強固なフロアパネル

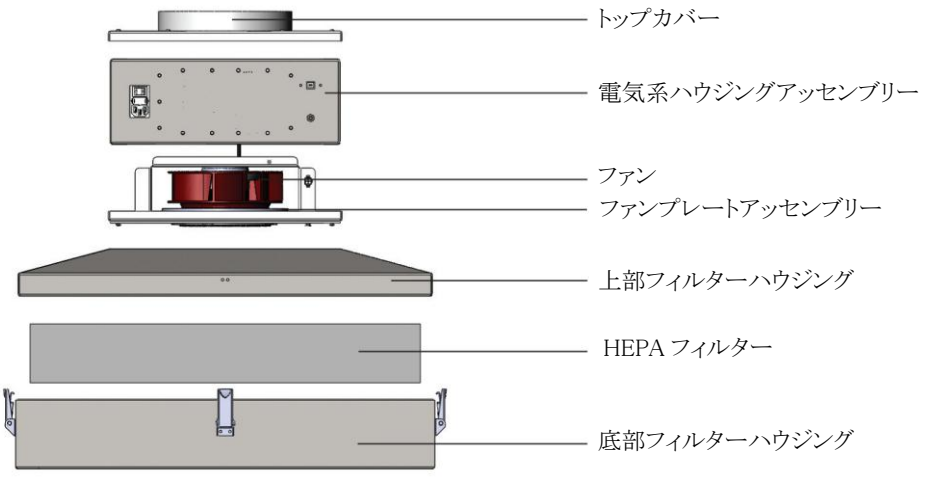


図 144 HEPA エアジェネレーター(送風機)

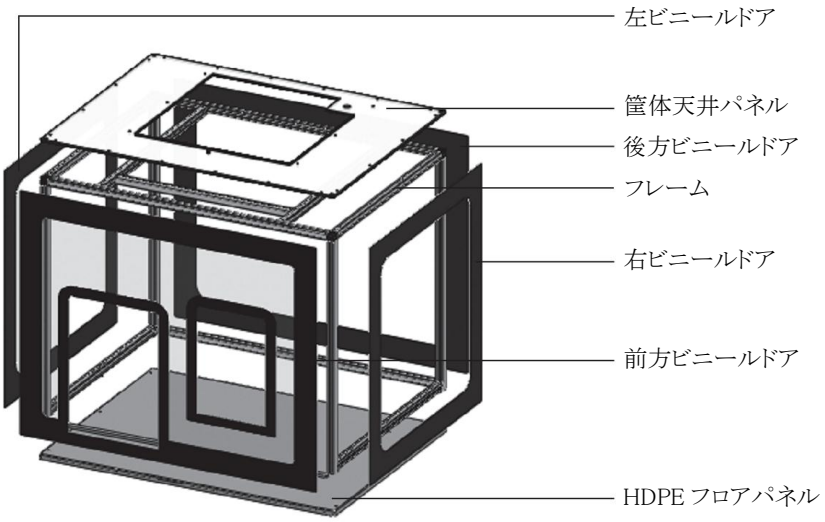


図 145 BioSafety システムのパネルとフレーム

S3 BioSafety システムの前面パネルには2つの開口部(アクセスドア)があります(図 **146**)。

- サンプルアクセスドア - ローディングステージ、タッチロック液晶、ソートチャンバーを操作するためのドア。
- 送液アクセスドア - S3 の送液ドアを開けるためのドア。内蔵タンク交換時に使用します。

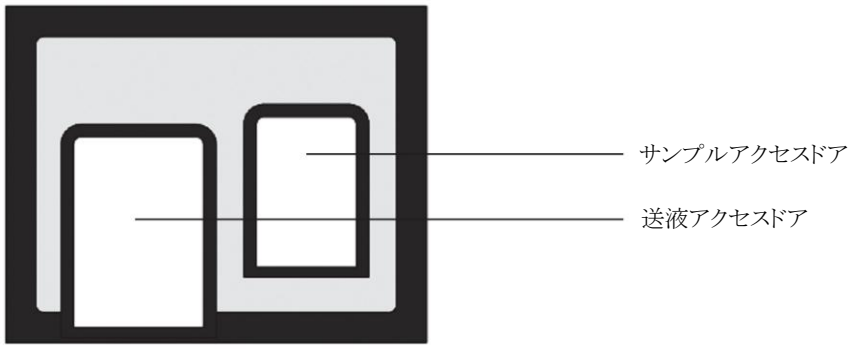


図 146 前面パネル内のアクセスドア

4 側面のビニールパネルは、磁石を使用してアルミニウムフレームに固定されます。 前面パネルの2つのアクセスドアは、磁石によって前面パネルに取り付けられています。 パネルやドアは、簡単に取り外すことができ、S3 セルソーターへ簡単にアクセスできる設計になっています。

危険に対する注意！

アクセスドアに使用されている磁石はペースメーカーや移植された心臓除細動機器に影響を与える可能性があります。

- ペースメーカーが磁気によりテストモードに切り替わることにより病気を引き起こす可能性があります。
- BioSafety システムに用いられている磁石は強力なものではありませんが、心臓除細動装置が敏感に反応して停止する危険性があります。
- もしペースメーカーや心臓除細動装置を装着されている場合にはそれら機器が安全に動作することが検証されるまで BioSafety システムの磁石から十分な距離を保ってください。
- 上記装置の装着者は BioSafety システムから安全な距離を保つ必要があります。これら機器の装着者には BioSafety システムから十分な距離を取るように予め警告をおこなってください。

11.1.4 仕様 (Specifications)

入力電源	100-240VAC, 50-60Hz, 1.25Amp
消費電力	125W
熱量	50W as <85 BTU/hr (=24.9 W/hr)
最大流入風速	175 CFM(Cubic feet per minute) = 0.89 m/秒
ファン(送風機)	R1G 175 DC Motorized Impeller
ヒューズ	2.0A Slow Blow
重量	23.6kg
サイズ(WxHxD)	135 x 146 x 96cm
騒音レベル	65 dB(最大エアフロー時)
操作温度範囲	18～25℃(±2℃以内で安定であること)
操作湿度範囲	20～60%(但し結露のないこと)
HEPA フィルター粒子捕捉率	0.3μm 粒子(IEST-RP-CC-034)使用時に 99.99%以上
HEPA フィルターサイズ	60.02 x 60.02 x 8.99 cm
筐体上面パネル素材	6.4 mm 厚ポリカーボネート
筐体底面フロアベース素材	19 mm 高密度ポリエチレン
側面ビニールドア素材	30mil(0.762mm) PVC(ポリ塩化ビニル)フィルム 18 oz(510g) ビニールコーティングポリエチレン
フレーム素材	25 mm 陽酸化処理済アルミニウム T スロット付

BTU:英国熱量単位(British thermal unit)

11.2 操作方法(Operation)

S3™ BioSafety システムは、ソーティング中に発生するエアロゾルからユーザ及び環境を保護するように設計されたクラス I システムです このシステムは、機能的に NIH 並びに ISAC の Class I バイオセーフティーキャビネットの流入風速基準を満たすように設計されています。

重要!

S3 セルソーターが S3 BioSafety システム内にある時は、BioSafety システムの電源は常にオンにしておく必要があります。
S3 セルソーター取扱説明書(本書)の記述に従って、セルソーターは使用していないときにはソフトウェアがシャットダウンすることによりアイドルモードにしておく必要があります。

BioSafety システムは、S3 セルソーターに過熱の危険性や火災に発展するような危険性がある場合には電源をオフにしなければなりません。

11.2.1 エアフローマネージメント (Airflow Management)

S3 BioSafety システムは、陰圧を利用して継続的にシステムのサイドパネル下部の隙間から外部空気を吸入しています。 吸入した空気は HEPA フィルターを通して上方に排気されています。

注意: 吸入空気は HEPA フィルター仕様の 0.3μm 粒子を 99.9997%の効率でろ過します。 システム内の空気 100%とした時に、このシステム内 100%空気を 1 分間に 6～8 回交換されます。システム内に流入する流入風速は、クラス I バイオハザード対策用キャビネットの基準(平均 0.36～0.4m/秒以上)を上回る 140 リニア FPM(feet per minute:=0.7m/秒)です。

システム内に設置された S3 セルソーターを周辺空気のろ過に加えて、S3 セルソーターのソートチャンバー直結されている S3 セルソーター背面のエアロゾル排気ポート(図 **147**)を介して直接 HEPA フィルターに接続されています。
ソートチャンバー内でできたエアロゾルはこのチューブを通じて吸引されます。HEPA フィルターを通した清浄な空気はシステム上部から実験室内に排気されます(図 **148**)。

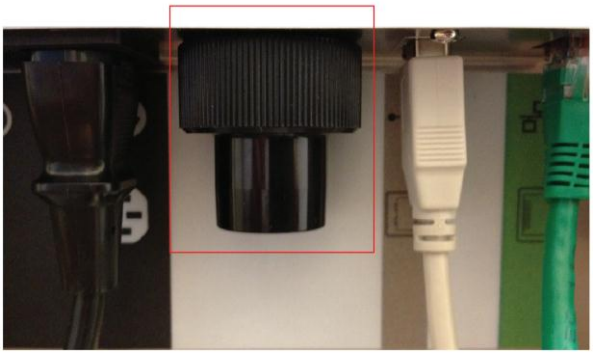


図 147　S3 セルソーターのエアロゾル排気ポート

HEPA フィルターを通る空気流が封じ込めのために必要な限度を下回った場合、ソフトウェアはユーザーに警告し、すぐにソート取得を停止します。

重要!

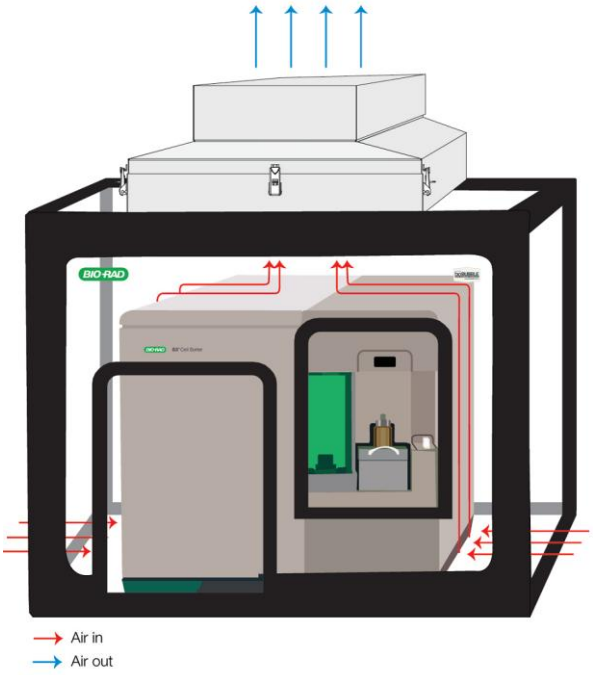


図 148　BioSafety システム内のエアフロー（気流）図

11.2.2　ソフトウェアによる制御(Software Control)

全てのアクセスドア・側面パネルが閉じている場合には、S3 BioSafety システムは、完全な封じ込めになります。サンプルアクセスドアが開いている場合には、システム内の状況が維持されています。システムは負圧の気流を維持していますが、送液アクセスドアが開いている状態では、システムは完全な封じ込めになりません。すべての側面パネルは空気の流れと封じ込めを維持するために、セルソーター動作中には閉じておく必要があります。

S3 BioSafety システムは ProSort ソフトウェアより制御されます。S3 セルソーターがソフトウェアによってシャットダウンされると、BioSafety システムは ランモードから S3 セルソーターの電子回路等の冷却維持をするのに十分なアイドルモードに自動的に切り替わります。
セルソーターが起動するとすぐに BioSafety システムのファン速度は、クラス I の封じ込めを可能にする流入風速を維持するために増加します。

ProSort ソフトウェア上では S3 BioSafety システムのアイコンは機器制御(Instrument Control)パネル(図 **150**)上に配置されています。アイコンをクリックすると表示されるステータス画面(図 **149**)には、筐体のシリアル番号、ファームウェアバージョン、BioSafety システムの状態、HEPA フィルターの寿命、および温度が表示されます。

S3 セルソーターのコンピュータ電源が落とされた場合にはソフトウェアが再起動されるまで、BioSafety システムはアイドルモードになります。BioSafety システムは、常時電源オンで使用するように設計されており、S3 セルソーターとコンピュータの主電源スイッチも常時電源オンにしておくことを推奨します。

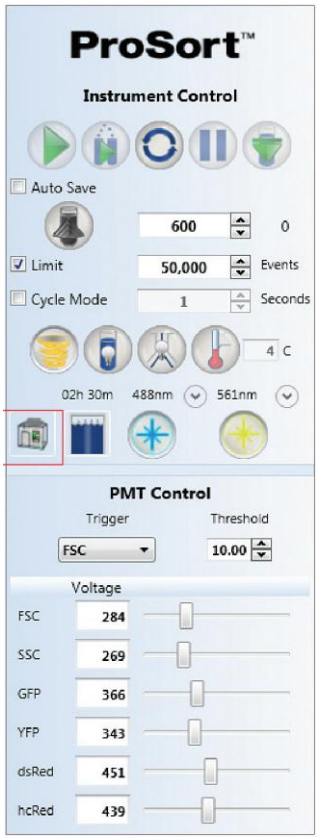


図 150 ProSort ソフトウェアの機器制御(Instrument Control)パネル– BioSafety アイコンボタンがハイライトされている

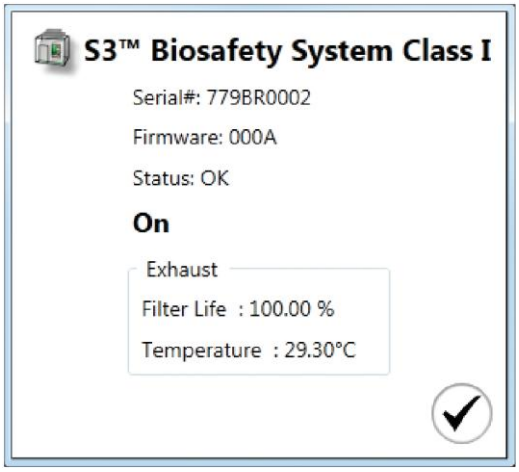


図 149 S3 BioSafety システム Class I ステータスウィンドウ

以下のいずれかが発生した場合、S3 セルソーターは、サンプル分析・ソーティングを停止し、警告表示をします。

- HEPA フィルターへの流入風速が必要基準を下回った場合。
- Filter Life(HEPA フィルター寿命)が 0%に達するした場合(図 **149**)。
- ProSort ソフトウェアと BioSafety システムとの通信が遮断された場合。

この場合には、解決するまでソフトウェアは、サンプル分析・ソーティングを実行することはできません。

Swap Tip を実行する場合には、ノズルドアを開いて操作できるように前面パネルを持ち上げて、上部フィルターハウジングに磁石でパネルを取り付て固定することができます。この状態では、S3 BioSafety システム内の空気流量が低減するため、システムは、クラス I 封じ込めにあるとみなされません。

11.2.3 S3 セルソーターと共に使用する。(Working with the S3 Cell Sorter)

S3 BioSafety システムは、S3 セルソーターを簡単に使用できるインターフェースを実現するために特別に設計されました。S3 本体を操作する場合には前面パネルの 2 つのアクセスドアを使用して行うことができます。

- サンプルアクセスドア - タッチロック画面、ソートチャンバー、ローディングステージの操作するために開くことができます。
- 送液アクセスドア – 送液タンク交換のために送液タンクドアへの開閉操作のために開くことができます。

重要!

適切に封じ込め環境を維持するために、サンプルアクセスドアだけを開放することができます。サンプルアクセスドアがセルソーター動作中に開いたままになっている場合でも、システムは封じ込め環境を維持したまま動作することができます。
サンプルアクセスドアと送液アクセスドアの両方が同時に開いている場合には、システムは、封じ込め環境を維持することができません。

アクセスドアを使う(Using the Access Doors)

二つのアクセスドアは磁気アタッチメントを使用して開閉することができます。アクセスドアの磁気アタッチメントと前面パネルには隙間がありますが、システムの封じ込め環境を維持する機能には問題ありません。

サンプルアクセスドア(Sample Access Doors)

サンプルのセットや取りだし並びに S3 セルソーターの操作のために、サンプルアクセスドア(図 **151**)を使用することができます。

- ローディングステージを操作する。
- タッチロック画面を使用する。
- ソートチャンバーを開閉する。
- コレクションアダプターをソートチャンバーに取り付ける。

サンプルアクセスドアのみが開いている場合には、ユーザーの保護のため、封じ込め環境は維持されています。作業員の安全のために維持されている。
ソーティング中にサンプルアクセスドアが開いていても正常に封じ込めが維持されていますが、S3 セルソーター本体を操作する必要がない時はサンプルアクセスドアを閉ることを推奨します。

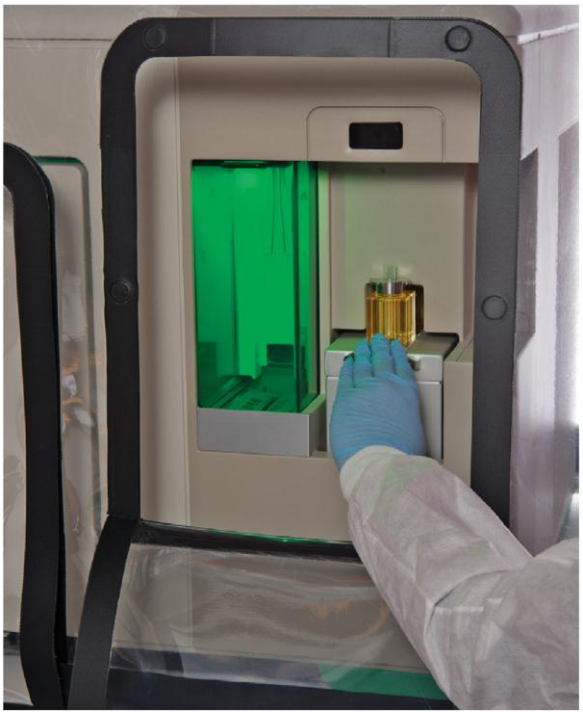


図 151 サンプルアクセスドア

送液アクセスドア(Fluidics Access Door)

送液アクセスドアは送液タンクに簡単にアクセスできるように配置されています(図 **152**)。送液タンクはは簡単に「ホットスワップ」(S3 本体が動作中の送液タンク交換作業)の際に、または Startup 前、シャットダウン後に簡単に交換を行うことができます。

送液タンクを交換するには:

1. ユーザアクセスドアを閉め、ProSort ソフトウェア上の **Swap Fluidics** ボタンをクリックします。
2. 送液アクセスドアを開きます。
3. 必要な送液タンクを交換します。
4. Swap Fluidics ステータスウィンドウ上の再生ボタン(図 **153**)をクリックします。

送液タンクを交換しない時は送液アクセスドアを閉じたままにしなければなりません。送液アクセスドアが開いている時には封じ込めは Class I 基準に維持されません。システムは送液アクセスドアが開いている時でもシステム内部の気流を維持しています。

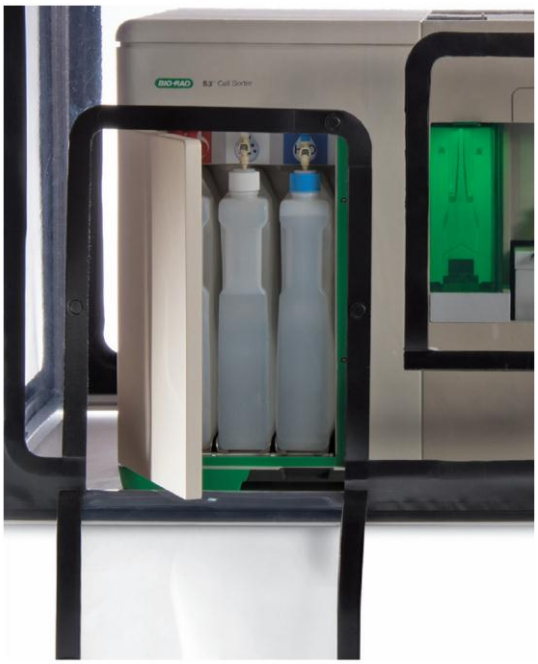


図 152　送液アクセスドア

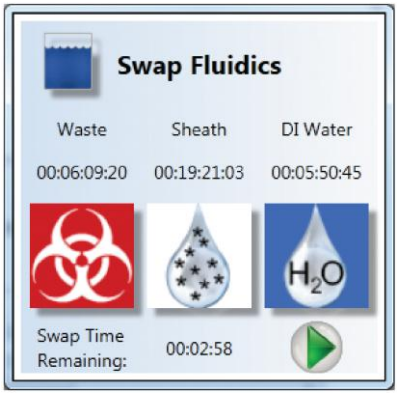


図 153　ProSort ソフトウェア上の Swap Fluidics ステータスウィンド

側面ビニールパネルの操作(Vinyl Side Panel Operation)
S3 セルソーターのクリーニング、メンテナンス、修理などのために S3 BioSafety システムの4側面すべてのパネルは開くことができます。側面パネルは、磁石を用いてアルミフレームに取り付けられています。 4 つのパネルは片手で容易に開くことができます。側面パネルはシステム上部(図 **154**)に載せるようにロールアップすることができます。前面パネルが安全に開放状態を維持するために HEPA エアジェネレーター(送風機)内に磁石が取り付けてあります。 前面パネルを持ち上げると、ノズル、フィルタードアを操作することが可能になります。側面パネルを巻き上げる際にはシステム最上部の排気口をふさがないように注意してください。

重要!
側面パネルのいずれかが開かれ、ロールアップされている状態ではエアフローが維持されていません。

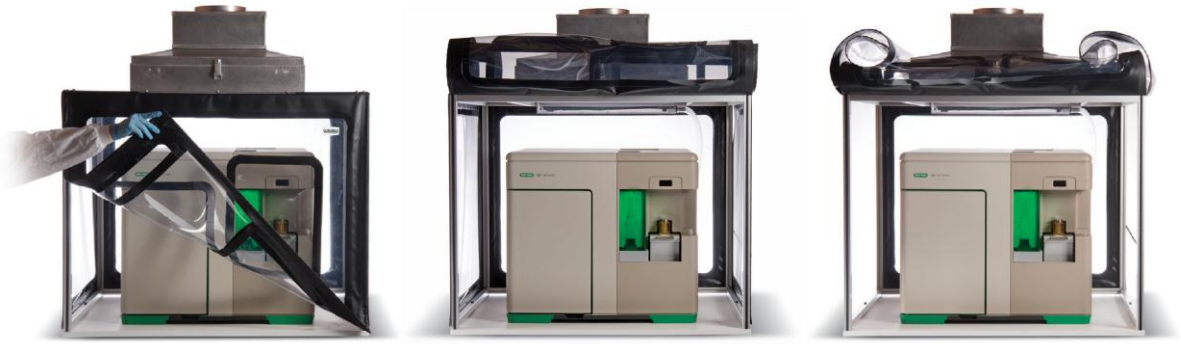


図 154 BioSafety システムの側面パネルを巻き上げた状態

11.3 S3 BioSafety システムのメンテナンス(Maintenance)

S3™ BioSafety システムは、ユーザーと外部環境の安全性を維持するように設計されています。
以下に特定の化学物質を扱う場合は、必ず各研究室の完全手順の個人保護(PPE:Personal Protective Equipment)に関連したガイドラインに従ってください。

注意!
注意:バイオハザード(生物学的危害)!
この機器の操作中は、バイオセーフティーが最も重要です。バイオハザード物質の適切な取り扱いと廃棄を確実にするために、所属組織の安全管理者、地方、都道府県、および国にご相談ください。

11.3.1 洗浄と滅菌(Cleaning and Sterilization)

バイオハザードのサンプルを扱う場合の S3 Biosafety システムは、汚染の対象となります。このようなサンプルを S3 セルソーターで取り扱った場合には、メンテナンスや保守作業前にシステムを除染(Decontamination)を実行することが重要です。

重要!
クリーニング溶液は指定以外ものは機器に使用しないでください。

表面洗浄(Surface Cleaning)
すべてのビニール内部表面は、10%ブリーチ、70%エタノール、または他の標準的な殺菌剤またはクリーナーで拭いてください。筐体内部の天井に接している HEPA フィルター表面にはスプレーしないようにご注意ください。湿った布や吸水性の布巾を使用してシステムを洗浄することをお勧めします。

完全滅菌(Deep Sterilization)
ウイルス、細菌、または真菌の汚染からシステムを完全に除染するためには、流路系やキャビネット内だけでなく、システム全体の完全滅菌を行う必要です。システムを完全滅菌するにはいくつかの選択肢があります。 S3 セルソーター内部の繊細な電子機器に、推奨される滅菌方法は、実験室内で過酸化水素(VHP)を気化させることにより VHP の霧にシステム全体を暴露して消毒を行います(過酸化水素ガス滅菌)。他のガス(霧)滅菌方法、例えばホルムアルデヒドくん蒸のような滅菌方法は行うことができますが、滅菌後に S3 セルソーターの光学部品表面に膜を残す可能性があるため、その後修理対応が必要になります。

11.3.2 HEPA フィルターの交換(Filter Replacement)

HEPA フィルターの交換は、正規トレーニングを受けた有資格者が行ってください。HEPA フィルターが変更されると、S3 BioSafety システムは、適切な安全性を確保するために再認定される必要があります。

BioSafety システムステータスウィンドウの Filter Life(フィルター寿命)10%に達したら HEPA フィルター交換予定日を設定して、認定されたバイオセーフティメンテナンス会社に連絡してください。

1. S3 セルソーターをシャットダウンし、背面電源をオフにします。
2. BioSafety システムの主電源をオフにして、電源ケーブルを抜きます。
3. USB ケーブルを抜きます。
4. 上部フィルターハウジングを固定しているクランプを外します。
5. センサーチューブのルアーフィッティングを見えるように上部フィルターハウジングの前側を上向きに傾けます。フィッティングを外します。
6. 完全に上部フィルターハウジングを取り外し、脇に置きます。
7. フィルターハウジングから HEPA フィルターを取り出し、各施設の安全基準に準じて使用済みの HEPA フィルターを処分してください。
8. フィルターハウジング内部を確認・洗浄します。必要な場合には滅菌します。
9. HEPA フィルター側面のシールに書かれた矢印を上に向けた状態でハウジングに新しい HEPA フィルターを挿入します。
10. センサーホースが前になるように上部フィルターハウジングを取り付けます。
11. 上部フィルターハウジングの前面を傾け、ルアーフィッティング再接続します。
12. ラッチを下に下ろしてフィルターガスケットを圧縮し固定します。
13. USB ケーブルを接続します。
14. 電源ケーブルを接続し、スイッチを入れます。
15. S3 システムの電源を投入し、ソフトウェア上で Filter Life や Status を確認してください。

11.4 保守サービスと認定(Service and Certification)

BioSafety システムの保守サービスを行う際には、必ず S3 セルソーターと BioSafety システムの主電源スイッチを完全にオフ(電源断)にする必要があります。

サービス(Service)
バイオ・ラッドでは、BioSafety システムの保守・修理サービス・サポートを提供しています。保守・修理サービスの依頼やお問い合わせには本書表紙裏に記載されたバイオ・ラッド テックコールにお問い合わせください。
バイオ・ラッドではシステムの現地認定(認定は認定サービス会社によって実施される必要があります)は行っていませんが、BioSafety システム設置時に適切な流入風速であること並びに ProSort™ソフトウェアとの通信が確実に成立していることを試験し確認します。

現地認定(Onsite Certification)
多くのバイオハザード対策用キャビネット(安全キャビネット)と同様に、S3 BioSafety システムは、設置時に Class I バイオハザード対策用キャビネットとして認定されている必要があり、適切な安全性を維持するために毎年認定を行う必要があります。現地認定されるまでシステムは使用できません。

認定は、本書記載の手順に従って有資格者である技術者が行ってください。現地認定が行える推奨認定サービス会社の連絡先はバイオ・ラッド テックコールにお問い合わせください。

注意!

注意:危険の恐れ！この手順は、潜在的に危険物質への暴露の可能性に対処するものではありません。BioSafety システムでの認定サービス、修理や HEPA フィルターの交換を含む作業を実施する場合は事前にバイオセーフティーや健康と安全の専門家に確認してください。

11.4.1 認定手順(Certification Procedure)

一般的な情報(General Information)

BioSafety システムはサンプルの無菌性維持を目的とした製品ではなく、ユーザーと環境の安全を確保することを主目的とした換気用キャビネットです。すべての流入空気は循環することなく、HEPA フィルターを通して排気されます。

認定試験は、S3 BioSafety システムがバイオハザード対策用クラス I キャビネット推奨基準を満たしていることを実証するために行います。

試験には以下の項目が含まれます:

- 流入風速試験:平均流入風速を計測。
- HEPA フィルター透過率試験:排気用 HEPA フィルターの完全性リークテスト 。
- 気流方向試験:煙を用いて視覚的に封じ込めを確認。

この手順は、バイオラッドの S3 BioSafety システム(HEPA フィルター付きキャビネット)の試験用に記載されています。試験結果はセクション 11.5 のフォームを使用して記録してください。

作業に必要な機器等(Materials and Equipment Needed)

- 校正された粒子検出エアロゾル光度計
- 校正済み熱線風速計 または校正済み風量計
- 多分散 PAO エアロゾル発生器
- 四塩化チタン($TiCl_4$)コンテナまたは同様の気流追跡用発煙管

11.4.2 手順(Procedure)

流入風速測定(Inflow Velocity Measurement)

1. キャビネットの HEPA フィルター用送風機を起動するために、S3 BioSafety システムを起動します。
2. (公称寸法)27.9 x 38.1cm(11×15 インチ)のサンプルアクセスドアを開いて、同じサイズ(最低限、高さ:10.2cm、幅:5.1cm;2x4 インチ)の区画に開口部を分割します(図 **155**)。他のすべてのドア・パネルが閉じている必要があります。
3. サンプルアクセスドアの開放領域の各区画の中心点での風速を記録します。気流と干渉しないように熱線風速計をしっかりとに保持すること。

図 155 サンプルアクセスドア開口部の分割

注:風速計が最大風速値を記録する位置は開口部に対して完全に垂直ではありません。

4. サンプルアクセスドア全体(8 箇所)の平均風速を計算します。
5. **適合基準:**算出された平均風速速度は 135 FPM(フィート/分:=0.69m/秒)以上なければなりません。必要に応じて適切な流入風速を取得するためにファンの速度調整を行います。
6. サンプルアクセスドアの開口部寸法を測定し、記録して、開口部面積を計算する。
7. サンプルアクセスドア開口部面積値に、周囲下部開口部面積($0.15ft^2$ =$4.57cm^2$)を加えて総流入面積を計算する。
8. 平均速度と総開口部面積を乗じて排出量(CFM=Cubic Feet per Minute)を計算する。(HEPA ファイルター透過率試験の上流側エアロゾル濃度を計算する場合は、この手順が必要です)。

HEPA フィルター透過率試験(HEPA Filter Integrity Leak Test)

1. この試験では校正済みエアロゾル相対濃度計(パーティクルカウンター)やエアロゾル発生器を使用してください。
2. システムの排気ファンが作動してを確認してください。
3. HEPA フィルターの全面にわたって均一な粒子分布を可能とするような方法で PAO(ポリアルファオレフィン)粒子を注入する。
4. HEPA フィルター上流のキャビネット内のエアロゾル濃度を測定もしくはエアロゾル発生器の出力定格から計算もしくはキャビネットの排気 CFM 容量を使用して、エアロゾル相対濃度計(パーティクルカウンター)を 100%濃度に設定します。
5. **適合基準:**最小上流濃度は 10μg/ L 以上である必要があります。
6. 排気ファンやダクト排気部にエアロゾル相対濃度計のプローブを挿入し、エアロゾル濃度を測定、記録します。
7. **適合基準:**特記のない限り、最大エアロゾル透過率は、上流濃度の 0.01%を超ないこと。

気流方向試験(Airflow smoke Patterns,Visual Containment)

1. 開口部から約 5cm(2 インチ)の距離から 27.9 x 38.1cm(11×15 インチ)のサンプルアクセスドア開口部の外周に沿って煙を回します。これにより、実験室の作業環境への煙の還流がないかを検査します。
2. 筐体側面最下部にある 7 ミリメートルの間隙全体に沿って煙を回します。
3. **適合基準:**煙がキャビネット内に引き込まれ、一度キャビネット内に引きこまれた煙がキャビネット外に漏れ出ないことを目視で確認する。

認定(Certification)

試験が全て合格した場合、下図のような認定ステッカーを本体に貼付します(図 **156**)。

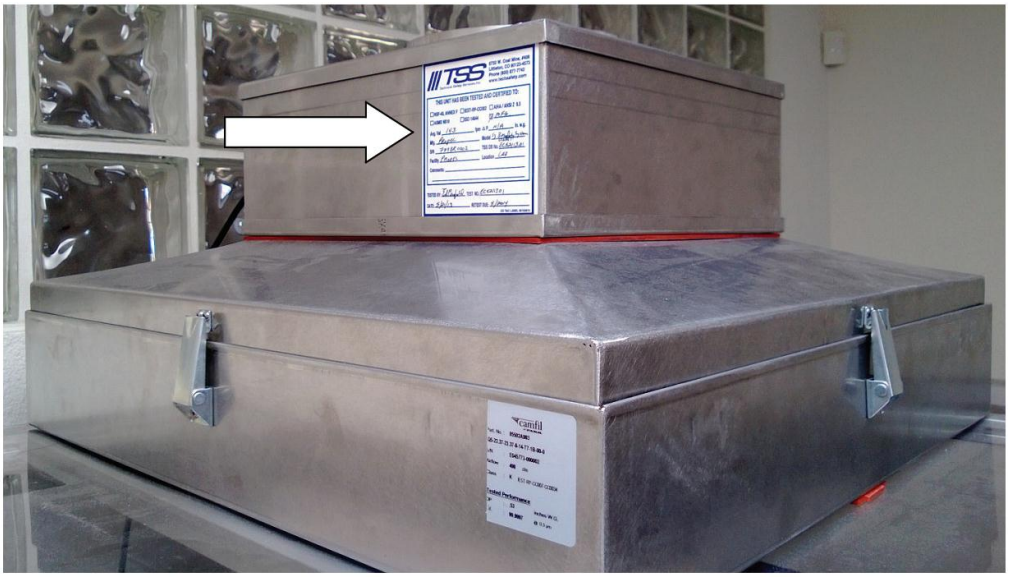


図 156 設地認定終了後に貼付される認定シール例

参考資料(References)

- SEFA 1 Recommended Practice, latest revision, section: Robotic Enclosure.
- ASME N510 latest revision
- IEST-RP-CC034 latest revision
- 日本工業規格 バイオハザード対策用クラスⅡキャビネット(JIS K3800)

11.5 S3 Biosafety System Class I Certification Form

S3 Biosafety System Class I Certification Form				
Customer Name		**Phone**		
Company				
Location				
Enclosure SN				
Inflow Velocity				
Airflow readings, FPM				
Calculated average airflow				FPM
Average airflow >135 FPM?		PASS or		FAIL
Measured area		ft^2		
Area of perimeter base slots		0.15		ft^2
Total area (measured area + perimeter slots)		ft^2		
Exhaust volume (average airflow x total area)				CFM
Leak Integrity				
Upstream concentration				
Upstream concentration >10 µg/L?		PASS or		FAIL
Exhaust discharge concentration				
Exhaust discharge <0.01% upstream concentration?		PASS or		FAIL
Smoke Containment				
Smoke drawn into enclosure?		PASS or		FAIL
Certifier (Printed Name)				
Certifier (Signature)				
Date of Certification				

11.5 S3 Biosafety システム Class I 試験フォーム

S3 Biosafety System Class I 試験フォーム

顧客氏名		**電話番号**		
会社名(組織名)				
住所				
シリアル番号				
流入風速試験(Inflow Velocity)				
流入風速(FPM)				
平均風速				FPM
平均風速は 135 FPM(0.68m/秒)以上か？		PASS or		FAIL
測定面積		ft^2		
キャビネット下部間隙面積		0.15		ft^2
総面積 (測定面積＋間隙面積)		ft^2		
排気量 (平均風速 x 総面積)				CFM
HEPA フィルター透過率試験(Leak Integrity)				
上流側粒子濃度				
上流側濃度は 10 µg/L 以上か？		PASS or		FAIL
下流側粒子濃度				
下流側粒子濃度は上流側粒子濃度の 0.01%以下か？		PASS or		FAIL
気流方向試験(Smoke Containment)				
煙はキャビネット内に取り込まれているか？		PASS or		FAIL
試験者(Printed Name)				
試験者 (Signature)				
試験日付				

第 12 章－トラブルシューティング(Troubleshooting)

12 トラブルシューティング(Troubleshooting)

表 36 にトラブルの種類と原因、及び、対策を記載します。

表 36 トラブルシューティング

エラー表示/エラー種類	原因	対策
Bubble detected (気泡発生)	サンプルラインに気泡が生じる。	ローディングステージを洗浄位置に置き、サンプルラインをバックフラッシングして気泡を取り除く。
Nozzle door interlock (ノズルドアインターロック)	ノズルドアが開いている。	ノズルドアを閉める。
Sort door interlock (ソートドアインターロック)	ソートドアが開いている。	ソートドアを閉める。
Waiting for QC QC required (QC テスト待ち)	システムスタートアップ後、QC が行われていない。	QC テストを行い、ソーティングを行える状態にする。
Not maintaining droplets (液滴形成が維持されない)	液滴のシフトが大きい。	ドロップディレイを実行して液滴を維持できるようにシステムを元に戻す。
Cannot unlock loading stage (ローディングステージのロック解除不可)	洗浄中である サンプルの分析中である。	洗浄が終わるまで待つ。 ソート又は分析を止める。
QC will not pass QC failed (QC テスト不合格)	キャリブレーションビーズが希釈されている。 不正なキャリブレーションビーズが使用されている。 QC Criteria(合否基準)が変更されている。 ProLine ビーズが検出されない。	希釈されていない ProLine™ ビーズを容器から直接とる。 必ず ProLine ビーズを使用すること。 正しいビーズロットのファイルを使用する。 チューブに滴下する前に ProLine ビーズを良く撹拌する。
Fluidic Error message (送液系エラーメッセージ)	クイックディスコネクターが正しく接続されていない。	接続を再チェックする。正しく接続されるとカチッという音が鳴る。
ストリームが曲がっている	ノズルチップが詰まっている。	Swap Tip ウィザードを使用してチップをクリーニングする。チップをノズルに取り付け直す。
手動コンペンセーションが使えない	Compensation チェックボックスが選択されていない。	プロット軸に付いている Compensation ボックスをチェックし、そして、もう一度チェックしてチェックマークを外す。
蛍光ラベルの付いているイベントを見ることができない	フィルターコンフィギュレーションが間違っている。	フィルターコンフィギュレーションと蛍光の組合せに問題がないかどうかチェックする。
	レーザーがオフである。	レーザーがオンになっていることを確認する。
レアイベントを見ることができない	表示されるイベントが低すぎる。	サイクルモード値を上げて、さらに多くのイベントが表示されるようにする。

表 36 トラブルシューティング(続)

エラー表示/エラー種類	原因	対策
突然の光の変化	QC テスト中に緑のスライドドアの手前でバックグランドが動いた。	QC テストをやり直す。テスト中、緑のスライドドアの手前側の光の状態が変化しないようにする。
Sheath Error (シースエラー)	内部シースボトルがシース液の適性レベルを維持できない。	DI 水及び 8xシース液の容器との接続をチェックして、正しく接続されていること、容器が空になっていないこと、及びストリームが流れることを確認する。フィルターが詰まっている場合は交換する。
Waste Error (廃液エラー)	廃液容器のクイックディスコネクターが正しく取り付けられていない。 廃液容器が満杯である。	廃液容器の接続をチェックして、正しく接続されていること、及び、廃液が流れることを確認する。接続後、リザーバが空になるまでに時間がかかる。廃液タンク内を見て廃液が行われていればポンプは動作しているということです。
ノズルチップ交換後にノズルが正規の位置に戻らない	ノズルチップ交換作業中にレーザーインターセクションカバーがずれた。	レーザーインターセクションカバーを正しい位置に戻す。これで、ノズルを所定の位置まで下ろすことができるはずである。
サンプルを分析できない。分析ボタンにカーソルを合わせると“Bubble detected”というメッセージが表示される。	室内の温度が低すぎる、又は、ライン中に気泡が含まれている。	室温を18℃以上に上げる。Debbleを実行する。効果がない場合は、テックサポートに相談すること。
Arcing (アーク)	高圧偏向板モニターが異常なプレート電圧を検出した。	ストリームのスプレー又は液滴が偏向板上にかかった。偏向板を慎重にクリーニング/乾燥する。
Swap Tip 実行後、もしくはノズル交換後にデータが検出されない	ノズルドアのインターロックが作動した。	ノズルドアを全開してから閉めることでノズルドアのインターロックがリセットされる。
分析中にイベントが検出されない	ノズルドアが開いいている。	ノズルドアを閉じる。
	レーザーシャッターが閉まっている。	ノズルドアの開閉を繰り返す。
	レーザーが点灯していない。	機器制御パネルからレーザーをオンにする。 S3 システムを UPS から再起動する。(コンピューターと S3 本体のコミュニケーションエラーのため)
	Threshold(閾値)が高すぎる。	より低い Thresold 値に設定する。
	Trigger(トリガー)設定でノイズしか出てこない。	TriggerをFSCもしくはSSCに設定する。
	ストリームがレーザーの中心に位置にない。	Swap Tip ウィザードで調整する。
	ビーズが検出できない。	サンプルチューブを確認。ビーズをボルテックスミキサーなどで撹拌してからチューブに滴下する。

表 36 トラブルシューティング(続)

エラー表示/エラー種類	原因	対策
イベントレートが高すぎる(典型的には QC 中もしくは 500eps でサンプルを流した場合)	ドロップドライブのノイズによる過剰なイベントレート(＞40,000eps)	■(サービスパネル内の)FSC/SSC トリガーを切り替える ■Swap Tip を実行する。 ■Edit Droplet ウィンドウの Calibrate Droplets を実行する(アドミニストレーター権限でログインが必要)
	光漏れ等による高いイベントレート(～8,000eps)	■システムに光が漏れている。原因となる全てのドア・カバーを閉める。 ■フィルター・フィルターブロックが正しい位置に固定されていることを確認する。 ■トリガーが FSC である場合にはミスアライメントや ND フィルターを除去する必要があるかもしれません。 ■オブスキュレーションバーの調整が必要。バイオ・ラッドテックサポートに連絡する。
	サンプルチューブに正しい加圧がされていないことによるイベントレート(～2,000eps)	Calibrate Sample Pressure Offset を実行する。
サンプルを 2,000eps 以上で流すと 40,000eps になる	散乱光が強すぎる	■オブスキュレーションバーの調整が必要。バイオ・ラッドテックサポートに連絡する。 ■Threshold(閾値)が低すぎる、Threshold 値を上げる。 ■シグナルが高すぎる、ND フィルターを入れる。
ドロップディレイグラフが不均一な V 字、平坦になる。	サイドストリームもしくはセンターストリームがおかしい。	■センターストリームが 1 本の流れになるように手動で Defanning 設定を行う。 ■サイドストリームがバラつかないように Phase を調整する。 ■Administrator タブの Droplet Control ウィンドウもしくは Swap Tip ウィザードの最終画面で液滴の再キャリブレーションを実施する。 ■サイドストリームの偏向設定が正しくない、Administrator タブからサイドストリームの Deflection を調整する。
シャットダウン時やユーザーログアウト(切り替え時)に行われるクリーニングで使用される液量が少ない。 (10%ブリーチもしくは DI 水では約 2ml が 1 分間に消費される。70% エタノールでは 2 分間で約 2ml)	サンプルラインの流路が細くなっている。	■サンプルラインが部分的につまっている場合、詰まりを除去するために複数回バックフラッシュ洗浄を実施する。 ■クリーニング時に少量(200-300 μl)しか流れない場合はサンプルラインの詰まりからサンプルラインの交換が必要な場合があります。内部ピンチバルブに挟まれたサンプルラインを取り外して揉むことにより問題が解消する場合があります。 ■バイオ・ラッドテックサポートに連絡する

表 36 トラブルシューティング(続)

エラー表示/エラー種類	原因	対策
Waste Trough Filling の警告が出て Safe mode になってしまった。	Waste Trough の排水ポートが詰まっている	ソーティングステージを奥まで押し入れ、すぐ下にある waste trough に廃液が溜まっているかどうか確認する。溜まっていたら排水ポートにスポイトで 10%ハイターを流し込んで詰まりを除去する。パソコンを再起動させる。 廃液が溜まっていないのに Waste Trough Filling の警告が出て safe mode になる場合はセンサーが誤作動している場合が考えられる。センサーに液滴がついていないか確認し、付着していたらエアスプレーで除去して本体とパソコンを再起動させる。改善しない場合はバイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
解析中にイベントレートがふらつく(一定の間隔で早くなったり遅くなったりする)。	サンプルポートの攪拌機からエアが漏れている	攪拌機能をオフにしてイベントレートが安定するか確認する。オフにすれば安定する場合はバイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
	ノズルの詰まり	ノズルチップを洗浄する
	その他	バイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
Waste タンクが膨張している	Hydrophobic filter が濡れている	バイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
除染プロセス中にフリーズしてしまった	ソフトウェアのエラー	バイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
ストリームがスプレー状になって流れている	ノズルチップの入れ忘れ	Swap tip でノズルチップを取り付ける
	ノズルチップの O-リングの入れ忘れ	Swap tip でノズルチップを外し、O-リングをはめる
	ノズルチップの詰まりが解消されていない	再度 swap tip を行い、ノズルチップを超音波洗浄にかけてきれいにする。
	ノズルチップの O-リングが入っていない	Swap tip でノズルチップを外し、O-リングをはめる

表 36 トラブルシューティング(続)

エラー表示/エラー種類	原因	対策
ストリームが斜めでスプレー状になってしまっている(偏光板や後方の壁、ソートステージに当たっているなど)	ノズルチップの O-リングが入っていない	Swap tip でノズルチップを外し、O-リングをはめる
	ノズルチップの取り付け位置が適切でない	Swap tip でノズルチップの位置、向きを確認する
	ノズルチップの奥にある wagon wheel が落ちてしまった、2 重に入っている、または適切な位置に入っていない。	Swap tip でノズルチップを外し、wagon wheel がまっすぐ適切に入っていることを確認する。
	ノズルチップの詰まりが解消されていない	再度 swap tip を行い、ノズルチップを超音波洗浄にかけてきれいにする。
ストリームが動く。ドロップレットカメラを見ると液滴が不定期に動いている。	ノズルチップの O-リングが入っていない	Swap tip でノズルチップを外し、O-リングをはめる
	ノズルチップの奥にある wagon wheel が落ちてしまった、2 重に入っている、または適切な位置に入っていない	Swap tip でノズルチップを外し、wagon wheel がまっすぐ適切に入っていることを確認する。
	ノズルチップの詰まりが解消されていない	再度 swap tip を行い、ノズルチップを超音波洗浄にかけてきれいにする。
ストリームがソートチャンバー後方の壁や偏向版、またはソートトレーに当たっている。	ノズルチップが真っ直ぐに取り付けられていない	Swap tip でノズルチップを再洗浄し、取り付けなおす。
	ノズルチップの O-リングが入っていない	Swap tip でノズルチップを外し、O-リングをはめる
	ノズルチップの奥にある wagon wheel が落ちてしまった、2 重に入っている、または適切な位置に入っていない。	Swap tip でノズルチップを外し、wagon wheel がまっすぐ適切に入っていることを確認する。
	ノズルチップの詰まりが解消されていない	再度 swap tip を行い、ノズルチップを超音波洗浄にかけてきれいにする。

表 35 S3 BioSafety システムに関するトラブルシューティング

エラー表示/エラー種類	原因	対策
BioSafety システムのアイコンが ProSort ソフトウェア上に表示されない。	システムが BioSafety システムが付属するように設定されていない。	BioSafety システムが含まれる構成に設定を変更するためにバイオ・ラッドテックサポートにお問い合わせください。
本体からファンの動作音がしない。	システムが静かすぎる。	BioSafety システムのファン近くで音を聴く。静かな音がするはずです。
	正しく接続されていない。	電源ケーブルが壁から本体へと確実に接続されていることを確認する。
	HEPA フィルターが寿命を迎えたため、システムが停止している。	BioSafety システムのステータスで HEPA フィルターの寿命が 10%以下になっているか確認してください。寿命が切れている場合には HEPA フィルターの交換が必要な場合があります。
ファンユニット付近から異音がする。	組み立て、固定がゆるい。	すべての組み上げ用ラッチを確認します。システムは正常な状態でも多少の振動があります。
アクセスドアの磁石部に大きな隙間がある。	磁石アタッチメントのずれ。	アクセスドアを再取り付けします。隙間を解消するために、アクセスドアを曲げながら隙間を調整します。隙間が残っていてもパネルの境界と一致する場合にはシステムが正しく機能します。
パネルを開いた時に固定されない。	パネルがエアジェネレーターやプラスティック天井パネルに上手くおけない。	プラスティック製天井パネルに均等におけるようにきつ目にパネルを丸める。
アクセスドアの水平がとれていない。	S3 セルソーターの設置場所が不適切である。	すべてのアクセスドアとアライメントが取れるように慎重に S3 セルソーターを調整します。 不適切な場所への設置は安全性を担保できません。

13 第13 章－試薬・アッセイキット(Reagents and Assay Kits)

種別	種類	No.	カタログ番号	品名
S3 専用試薬	キャリブレーションビーズ	1	145-1081	ProLine™ キャリブレーションビーズ
		2	145-1086	ProLine™ Universal キャリブレーションビーズ
	8 ピークビーズ	3	145-1085	ProLine™ Rainbow ビーズ（5ml x 1 本）
	シース液	4	145-1082	ProFlow™ 8x シース液（20L:4L x 5 個）
	滅菌済み DI 水	5	145-1083	ProFlow™ Sorting grade water
アッセイキット	死細胞除去(細胞生存率)	6	145-1101 145-1102	ReadiDrip Cell Viability Assay
		7	135-1111～ 135-1118	VivaFix Cell Viability Assay
	細胞増殖アッセイ	8	135-1201	CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit
		9	135-1201～ 135-1205	CytoTrack™ Cell Prolifeeration Assay Kit
	抗体ラベルキット	10	135-1001～ 135-1013	ReadiLink Antibody Labeling Kit

ProLine™ Calibration Beads

カタログ番号	品名
145-1081	ProLine キャリブレーションビーズ（3x 5ml ボトル）

使用目的

ProLine キャリブレーションビーズは S3 セルソーター488nm システム(145-1001J1)並びに 488/561nm システム(145-1002J1)でアライメント調整とドロップディレイ計算を行うために最適化されています。各ボトルには、希釈せずにそのまま使用する単一集団の蛍光ビーズが含まれています。

注意：S3 セルソーター 488/640nm システム（145-1004J1）ではこのビーズは使用できません。488/640nm システムは ProLine Universal キャリブレーションビーズ(145-1086)を必ずご使用ください。

容量:5ml ボトル x 3

濃度:1x10^6 ビーズ/ml

ビーズサイズ:6 μ m

保存バッファー組成
0.02% アジ化ナトリウム 及び0.01% NP-40 を含む脱イオン水

保存温度:2～8℃
重要:遮光の上、凍らせないこと。

ビーズのロットごとの仕様
各ビーズロットの仕様は、分析証明書(Certificate of Analysis)に記載されています。バイオ･ラッドのウェブサイト(www.bio-rad.com)の製品ページより分析証明書をダウンロードしてください。

使用方法

注意:ボトル内のビーズ濃度は、希釈せずにそのまま使用するための濃度になっています。

注意: ProSort ソフトウェアを起動していない場合には、ProSort ソフトウェアアイコンをダブルクリックしてソフトウェアを起動します。ソフトウェアのログイン画面に入力して、ログインし Setup and Maintenance ツールバーの **Startup** ボタンをクリックします。

重要:ビーズは希釈しないで下さい。

ビーズの調製
1. 5ml の ProLine キャリブレーションビーズボトルをボルテックスミキサー等で十分に撹拌する。
2. ボトルの蓋を取り、5ml チューブにボトルのドロッパーを使用して 10 滴（約 0.5ml）滴下する。

QC(Quality Control:品質管理)手順
1. ProLine キャリブレーションビーズの入った 5ml チューブをローディングステージにセットします。
2. ローディングステージを分析位置に移動します。
3. Setup and Maintenance ツールバーの **Run QC** ボタンをクリックします(図 **157**)。

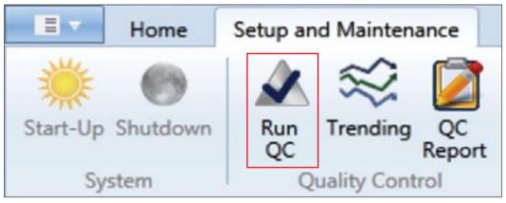


図 157 Setup and Maintenance ツールバー上の RunQC ボタン

4. Quality Control Process ウィンドウでご使用の Bead Lot を選択し、チェックマークボタンをクリックします

注意:もしご使用の Bead Lot がプルダウンメニューにない場合には、セクション 3.3.1 QC テスト判定基準の変更（Editing QC Criteria）をご参照ください。

図 158 Quality Control Process ウィンドウ

5. ドロップディレイ計算が終了したら、Quality Control Process Status ウィンドウのチェックマークボタンをクリックします

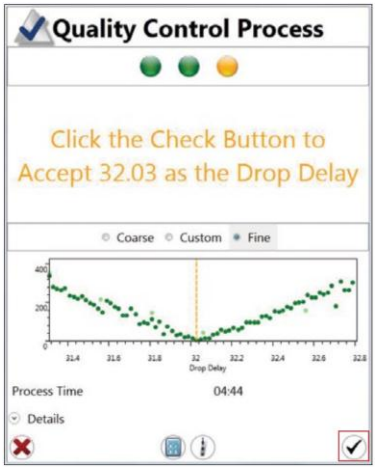


図 159 Quality Control Process Status ウィンドウ

6. Passed（合格）/Failed（不合格）が表示された Daily QC Report ウィンドウが表示されます（図 **160**）。

QC が合格した場合：S3 セルソーターは使用できる状態になりました。チェックマークボタンでウィンドウを閉じて分析・ソートを開始することができます。

QC が不合格な場合：QC 手順に戻り、再度行います。さらに 2 回以上 QC を実施して合格しない場合には、バイオ・ラッドテックコールに連絡してください。

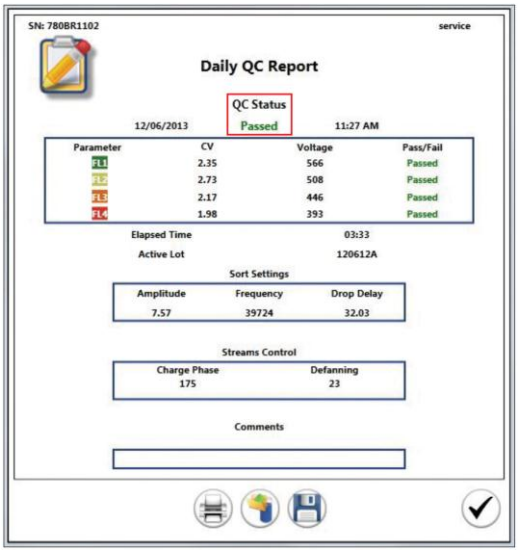


図 160　QC レポートウィンドウ－ QC が合格した場合

注：この試薬は研究用にのみ使用できます。

ProLine™ Universal Calibration Beads

カタログ番号	品名
145-1086	ProLine Universal キャリブレーションビーズ（3x 5ml ボトル）

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

ProLine キャリブレーションビーズは S3 セルソーター488nm システム(145-1001J1)、488/561nm システム(145-1002J1)並びに 488/640nm システム(145-1004J1)でアライメント調整とドロップディレイ計算を行うために最適化されています。各ボトルには、希釈せずにそのまま 5ml チューブに 10 滴加えるだけで QC を開始する単一集団の蛍光ビーズが含まれています。QC は 7 分未満で終了し、過去の結果を継続的に追跡するために結果レポートが作成されます。

容量: 5ml ボトル x 3

濃度: 1x10^6 ビーズ/ml

ビーズサイズ: 6 μ m

保存バッファー組成
0.02% アジ化ナトリウム 及び 0.01% NP-40 を含む脱イオン水

保存温度: 2～8℃
重要: 遮光の上、凍らせないこと。

ビーズのロットごとの仕様
各ビーズロットの仕様は、分析証明書(Certificate of Analysis)に記載されています。バイオ･ラッドのウェブサイトの製品ページ(www.bio-rad.com/prolineuniversal)より分析証明書をダウンロードしてください。

使用方法

重要: ビーズは、希釈しないでください。

注意: ProSort ソフトウェアを起動していない場合には、ProSort ソフトウェアアイコンをダブルクリックしてソフトウェアを起動します。ソフトウェアのログイン画面に入力して、ログインし Setup and Maintenance ツールバーの **Startup** ボタンをクリックします。

ビーズの調製

1. 5ml の ProLine ビーズボトルをボルテックスミキサー等で十分に撹拌する。
2. ボトルの蓋を取り、5ml チューブにボトルのドロッパーを使用して 10 滴（約 0.5ml）滴下する。

QC(Quality Control:品質管理)手順

1. ProLine ビーズの入った 5ml チューブをローディングステージにセットします。
2. ローディングステージを分析位置に移動します。
3. Setup and Maintenance ツールバーの **Run QC** ボタンをクリックします(図 **161**)。

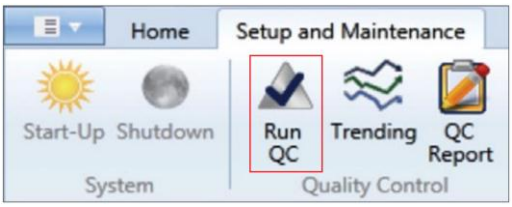


図 161　Setup and Maintenance ツールバー上の RunQC ボタン

4. Quality Control Process ウィンドウでご使用の Bead Lot を選択し、チェックマークボタンをクリックします。

注意: もしご使用の Bead Lot がプルダウンメニューにない場合には、セクション 3.3.1 QC テスト判定基準の変更（Editing QC Criteria）をご参照ください。

図 162　Quality Control Process ウィンドウ

5. ドロップディレイ計算が終了したら、Quality Control Process Status ウィンドウのチェックマークボタンをクリックします
6. Passed（合格）/Failed（不合格）が表示された Daily QC Report ウィンドウが表示されます（図 **164**）。

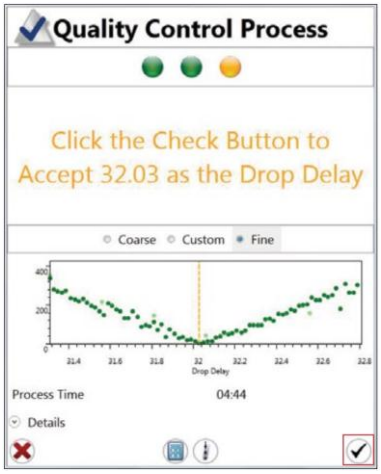


図 163　Quality Control Process Status ウィンドウ

QC が合格した場合: S3 セルソーターは使用できる状態になりました。チェックマークボタンでウィンドウを閉じて分析・ソートを開始することができます。

QC が不合格な場合: QC 手順に戻り、再度行います。さらに 2 回以上 QC を実施して合格しない場合には、バイオ・ラッドテックコールに連絡してください。

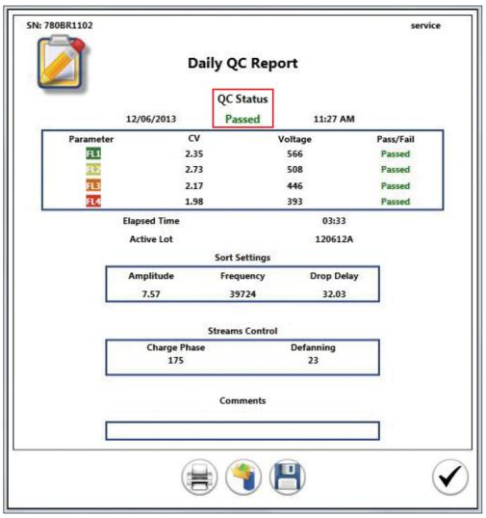


図 164　QC レポートウィンドウ-QC が合格した場合

注: この試薬は研究用にのみ使用できます。

新 Bead Lot ファイル

ProLine Universal キャリブレーションビーズはロットごとに QC 基準を規定した Bead Lot ファイルがあります。ProSort ソフトウェアに新しい Bead Lot ファイルをインストールするには以下の手順に従ってください。

新しい Bead Lot ファイルをダウンロードするには:

1. www.bio-rad.com/prolineunivesal を Internet Explorer 等ブラウザで開きます。
2. Description タブにある新しいロットの Bead Lot ファイルをダブルクリックします。
3. ファイルを USB メモリもしくは S3 セルソーターと接続されたコンピューターのデスクトップに保存します。

新しい Bead Lot ファイルを ProSort ソフトウェアにインストールするには:

1. ProSort ソフトウェアを起動して、アドミニストレーター権限でログインします。
2. **Administrator** タブの **Edit QC Criteria** をクリックします（図 **165**）。

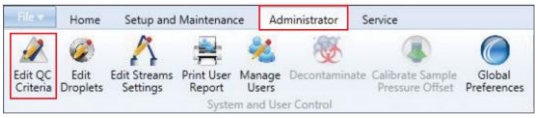


図 165　Administrator タブの Edit QC Criteria ボタン

3. Bead Lot 横の「＋」ボタンをクリックします（図 **166**）。
4. ウィンドウで新しい Bead Lot ファイルを選択して、Save ボタンをクリックします。新しい Bead Lot ファイルが ProSort ソフトウェアにインストールされて使用できる状態になります

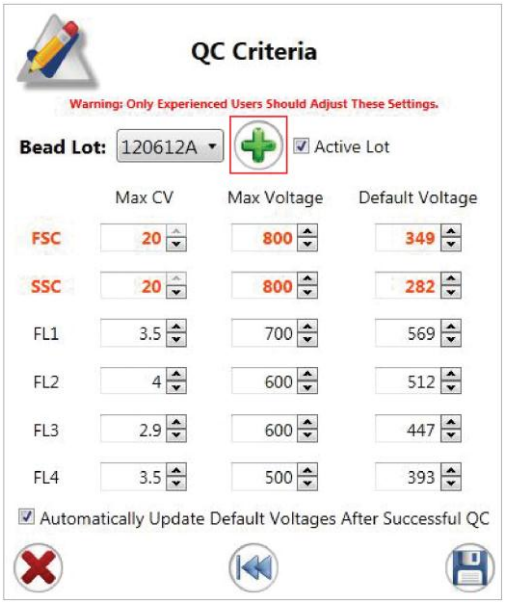


図 166　QC Criteria ウィンドウ上の Bead Lot 追加（＋）ボタン

ProLine™ Rainbow Beads

カタログ番号	品名
145-1085	ProLine Rainbow ビーズ（1x 5ml ボトル）

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

ProLine Rainbow ビーズは S3 セルソーターシステムの日常のキャリブレーションを行うために最適化されています。ボトルには、365～650nm の波長で励起できる 8 つ異なる蛍光強度を持った 3.0～3.4μm の混合ビーズが含まれています。

容量:5ml ボトル x 1

保存バッファー組成
0.02% アジ化ナトリウム 及び0.01% NP-40を含む脱イオン水

保存温度:2～8℃
重要:遮光の上、凍らせないこと。

使用方法
ビーズの調製

1. ProLine Rainbow ビーズボトルをボルテックスミキサー等で十分に撹拌する。
2. 5ml チューブに1mlの PBS(Phosphate buffered saline;リン酸緩衝生理食塩水)に対して Rainbow ビーズを 3～5 滴加えます。

測定手順

1. 希釈した ProLine Rainbow ビーズの入った 5ml チューブをローディングステージにセットします。
2. ローディングステージを分析位置に移動します。
3. ProSort ソフトウェアで新しいプロトコールを開きます。
4. 開いたプロトコール上のワークスペースにデンシティープロットを1つとヒストグラムを4つ作成します。作成したプロットの軸等は以下を参照してください。

プロット	X軸	Y 軸
デンシティー	SSC/Area	FSC/Area
ヒストグラム 1	Count	FL1/Area/Log
ヒストグラム 2	Count	FL2/Area/Log
ヒストグラム 3	Count	FL3/Area/Log
ヒストグラム 4	Count	FL4/Area/Log

*FSC=Forward Scatter(前方散乱光) SSC=Side Scatter(側方散乱光)

5. 機器制御(Instrument Control)パネルからスタートボタン(Start sample acquisiton)をクリックします。
6. デンシティープロットに集団が表示されるように PMT 制御パネルで FSC（前方散乱光）と SSC（側方散乱光）の PMT 電圧を調整します（図 **167**）

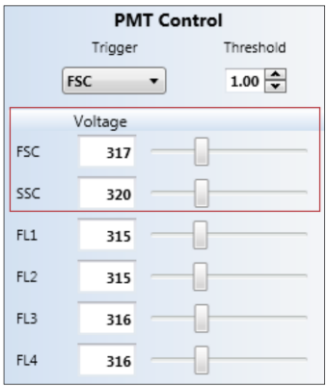


図 167　PMT 制御パネル-FSC/SSC 電圧調整部がハイライト表示

7. デンシティープロット上で矩形(Rectangle)領域を選択して（図 **168**）、表示されたデンシティーの濃い集団にゲートをかけます（図 **169**）。

図 168　Home タブ内の矩形(Rectangle)領域

8. ヒストグラム上で右クリックして **Apply Gate > R1** を選択します。

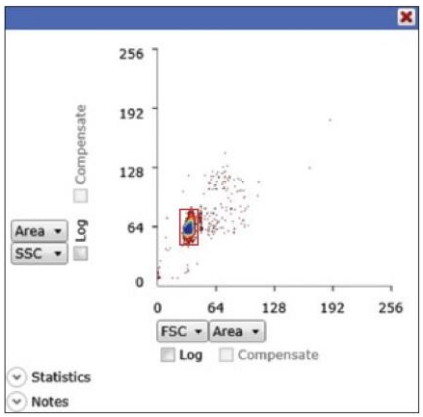


図 169　デンシティープロット上で集団を短形ゲート

9. PMT 制御パネルで、FL1、FL2、FL4 のヒストグラム上で 8 ピークが検出されるように PMT 電圧を調整します（図 **170**）

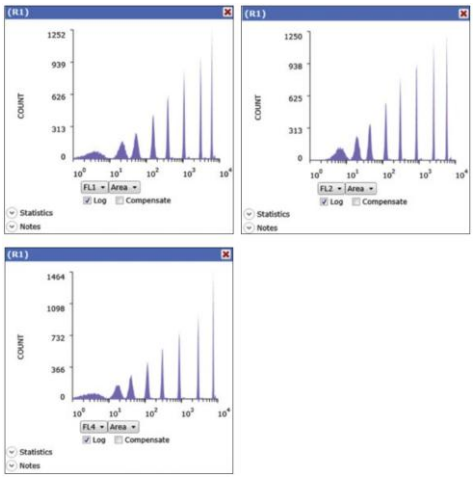


図 170　FL1,FL2,FL4 ヒストグラム上の 8 ピーク表示

10. FL3 については2つの異なる電圧設定をして 8 ピークを別々に表示する必要があります。まず 1～7 のピーク(図 171)が表示される電圧設定を行い、今後のために FCS (Flow Cytometry Standard)ファイルを保存しておきます。

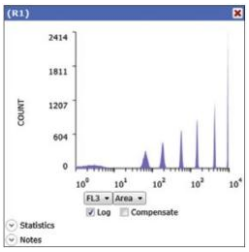


図 171 FL3 ヒストグラム-1～7 ピークが表示

11. 次に 2-8 ピーク(図 172)が表示されるようになるまで FL3 の電圧を調整します。表示された段階で今後のために FCS ファイルを保存します。

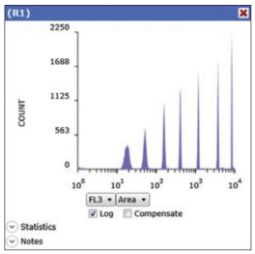


図 172　FL3 ヒストグラム- 2～8 ピークが表示

ProFlow™　8x シース液

カタログ番号	品名
145-1082	ProFlow 8x シース液（4Lx 5 個:20L)滅菌済

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

ProFlow 8x シース液は S3 セルソーター専用の保存料を含まない PBS(Phosphate buffered saline;リン酸緩衝生理食塩水)です。

容量:4L タンク x 5

自動希釈後の試薬組成

注意:S3 セルソーターは 8x シース液タンクを滅菌水で 8 倍希釈することにより、1タンクにつき 32L の 1x シース液を自動的に調製します。

Disodium EDTA (エチレンジアミン四酢酸ニナトリウム)	1.0mM
Potassium phosphate, monobasic (第一リン酸カリウム)	1.9mM
Potassium chloride(塩化カリウム)	3.8mM
Sodium phosphate, dibasic (第二リン酸ナトリウム)	16.6mM
Sodium chloride(塩化ナトリウム)	139.0mM
Preservative(防腐剤/保存料)	None

保存温度:15～30℃
重要:凍らせないこと。

警告と注意事項

すべての化学物質溶液と同様に、濃縮液もしくは希釈液の目、皮膚、衣服との接触を避けてください。特別な推奨予防措置はありません。詳細については製品安全データシート(MSDS:Material Safety Data Sheet)をご参照ください。

8x(8 倍濃縮)溶液は通常、無色透明で粒子の混入はありません。溶液に濁りや沈殿、変色または細菌/真菌のコンタミネーションがある場合には、試薬を廃棄してください。

シャットダウン後の使用方法

重要:無菌操作技術を使用して取扱ってください。

1. 金属ボタンを押して、シースタンクのキャップからクイックディスコネクターを外して磁気ホルダーに当たるまでコネクターを引き上げます(図 **173**)。
2. タンクを少し持ち上げ、空のシースタンクを引き出します。
3. 新しい 8x シース液タンクの白キャップを外し、中のシールを剥がします。
4. 空のシース液タンクから白のシースタンクキャップアッセンブリーを取り外します。
5. 慎重にキャップアッセンブリーを新しい 8x シース液タンクに挿入して、キャップを締めます。
6. シース液タンクを所定の位置に入れ、クイックディスコネクターがカチッと音がするまでキャップアッセンブリーに差し込みます。

図 173　S3 セルソーターの送液タンク部

注意:S3 セルソーターの電源が入っている状態でシース液タンクを交換する場合には S3 セルソーター取扱説明書(本書)の 5.3.1 ホットスワップ(Hot Swap)もしくはクイックガイドをご参照ください。

注意:本試薬は防腐剤を含まないシース液のため、細菌のコンタミネーションが発生する可能性があります。本試薬は研究用にのみご使用頂けます。

ProFlow™ Sort Grade Water

カタログ番号	品名
145-1083	ProFlow　Sort Grade Water (4Lx 5 個:20L) 滅菌済

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

ProFlow Sort Grade Water は S3 セルソーターに最適化されており、ソーティングに信頼性をもたらします。

ProFlow Sort Grade Water は微細な活性炭に通し、2 つの樹脂を通して脱イオン化し、無菌化並びにエンドトキシンを除去するために 0.1 μm の荷電フィルターに 2 回通して、逆浸透により調製されています。
各タンクは充填前に無菌性を確保するためにカンマ線滅菌を行っています。

容量:4L タンク x 5

保存温度:15～30℃
重要:凍らせないこと。

品質管理
各ロットは原材料を慎重に選択し、セルソーティング用に高品質で無菌ソーティング品質の水を製造するために各ステップでモニタリングがされcGMP(current good manufacturing practice)に則って製造されています。

製品固有の試験
ProFlow Sort Grade Water は以下の仕様が満たされていることを確認するためcGMP 環境で試験されています。

- エンドトキシン濃度 - 0.03 EU/ml 未満
- 無菌性 - 細菌/真菌が増殖しない。
- 外観 - 透明で液体である。

シャットダウン後の使用方法

重要:無菌操作技術を使用して取り扱ってください。

1. 金属ボタンを押して、DI 水タンクのキャップからクイックディスコネクターを外して磁気ホルダーに当たるまでコネクターを引き上げます(図 **174**)。
2. タンクを少し持ち上げ、空のタンクを引き出します。
3. 新しい ProFlow Sort Grade Water タンクの白キャップを外し、中のシールを剥がします。
4. 空の DI 水タンクから青の DI タンクキャップアッセンブリーを取り外します。
5. 慎重にキャップアッセンブリーを新しい ProFlow Sort Grade Water タンクに挿入して、キャップを締めます。
6. タンクを所定の位置に入れ、クイックディスコネクターがカチッと音がするまでキャップアッセンブリーに差し込みます。

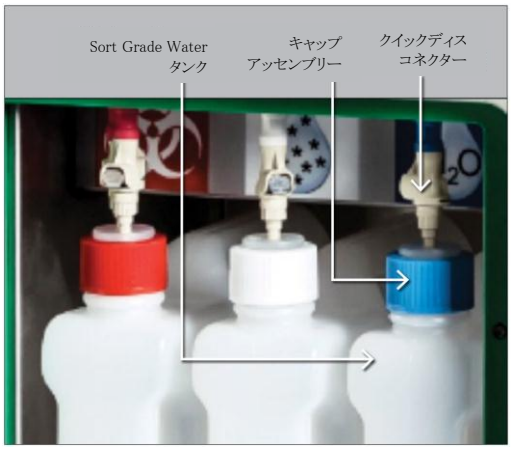


図 174　S3 セルソーターの送液タンク部

注意:S3 セルソーターの電源が入っている状態でシース液タンクを交換する場合には S3 セルソーター取扱説明書(本書)の 5.3.1 ホットスワップ(Hot Swap)もしくはクイックガイドをご参照ください。

ReadiDrop™ Cell Viability Assay

カタログ番号	品名
145-1101	ReadiDrop Propidium Iodide (3ml x 3)
145-1102	ReadiDrop 7-AAD (3ml x 3)

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

ReadiDrop cell Viability Assays(細胞生存率アッセイ) は、セルソーティングと細胞分析アプリケーションで死細胞排除を行うのに最適な試薬です。ReadiDrop は秤量、ピペッティング、希釈が必要な一般的な試薬とは異なり、ボトルを開けてそのまま溶液を加えるだけですぐに使用できます。

ReadiDrop PI と 7-AAD は両方とも細胞不透過性の色素です。サンプルに 1-2 滴加えると、ReadiDrop は細胞膜が崩壊した死細胞では細胞質内に入り、二本鎖 DNA もしくは RNA の塩基間に結合(インターカレート)します。このため、死細胞は生細胞よりも高い蛍光強度を示します。高蛍光の細胞集団をゲートアウトして、死細胞に起因する間違った解釈を取り除いて生細胞のみを分析することができます。

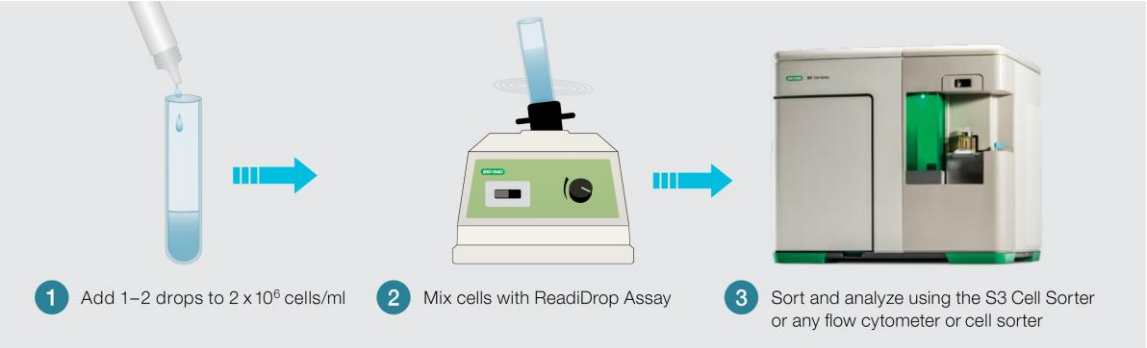

1 Add 1–2 drops to 2 x 10⁶ cells/ml
2 Mix cells with ReadiDrop Assay
3 Sort and analyze using the S3 Cell Sorter or any flow cytometer or cell sorter

図 175　3-ステップでサンプル細胞の生存状態を簡単に評価

キット構成

キット構成品	数量	保存条件
ReadiDrop Cell Viability Assay	3ml ボトル　x 3 本	室温

検出波長

カタログ番号	品名	S3 488nm	S3　488/561nm	S3 488/640nm
135-1101	ReadiDrop Propidium Iodide(PI)	FL3(615/25nm)	FL3(615/25nm)	FL2(593/40nm)
135-1102	ReadiDrop 7-AAD	FL4(655LP)	FL4(655LP)	FL3(670/30nm)

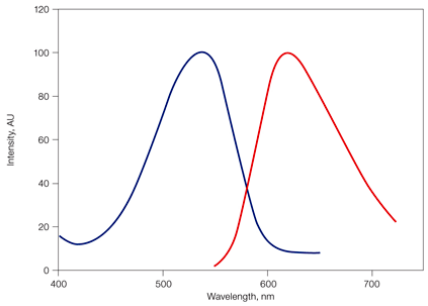


図 177 ReadiDrop PI 励起(青)/蛍光(赤)波長

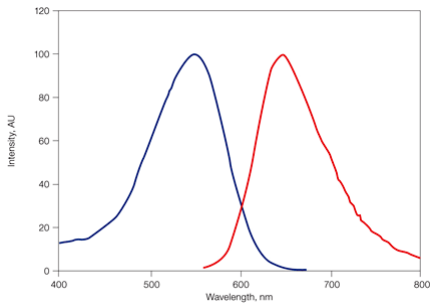


図 176 ReadiDrop 7-AAD 励起(青)/蛍光(赤)波長

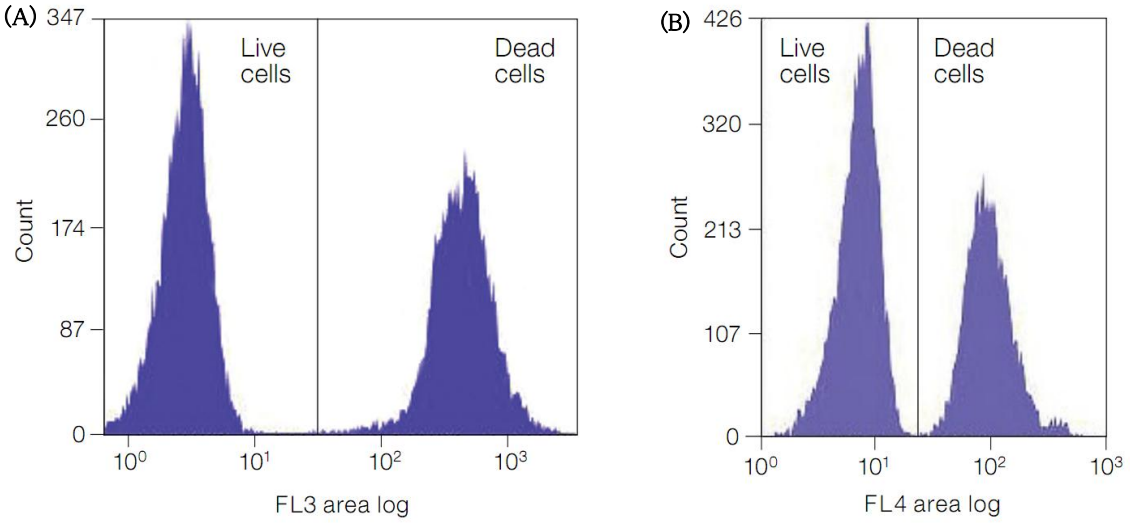


図 178　ReadiDrop Cell Viability Assay によって簡単に死細胞を識別することができます。
Jurkat 細胞の生細胞と熱殺菌した混合サンプルをソーティング前に 1 分間、ReadiDrop PI（A）と 7-AAD（B）で染色した。

VivaFix™ Cell Viability Assay

カタログ番号	品名		
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

VivaFix cell viability assay はフローサイトメトリーや顕微鏡で哺乳類動物細胞の生存率を評価することが簡単にできる多目的な試薬です。フローサイトメトリー実験では非特異的な蛍光シグナルによって生じるデータの誤解釈を防ぐためにサンプル内の死細胞除去を行うことは重要です。

VivaFix Cell Viability Assay 独自の色素が共有結合的に第一級アミンに結合することによって、生細胞と死細胞を簡単に区別することができます。 生細胞では、VivaFix 色素は、細胞表面の一次アミンに結合します。原形質膜が損なわれた死細胞の場合、色素が細胞質内に浸透し、細胞内の一級アミンと反応します。その結果、より多くの蛍光分子が死細胞に取り込まれるため、生細胞と死細胞とでは蛍光強度に少なくとも 100 倍の差が生じることにより、二つの集団(FIG1)を容易に識別することが可能になります。

VivaFix は、幅広い範囲の励起/蛍光スペクトルでの利用が可能であり、マルチカラー実験に組み合わせるのに最適です。VivaFix 色素は、細胞固定をした場合にも著しく蛍光を退色させることなくご使用頂けます。

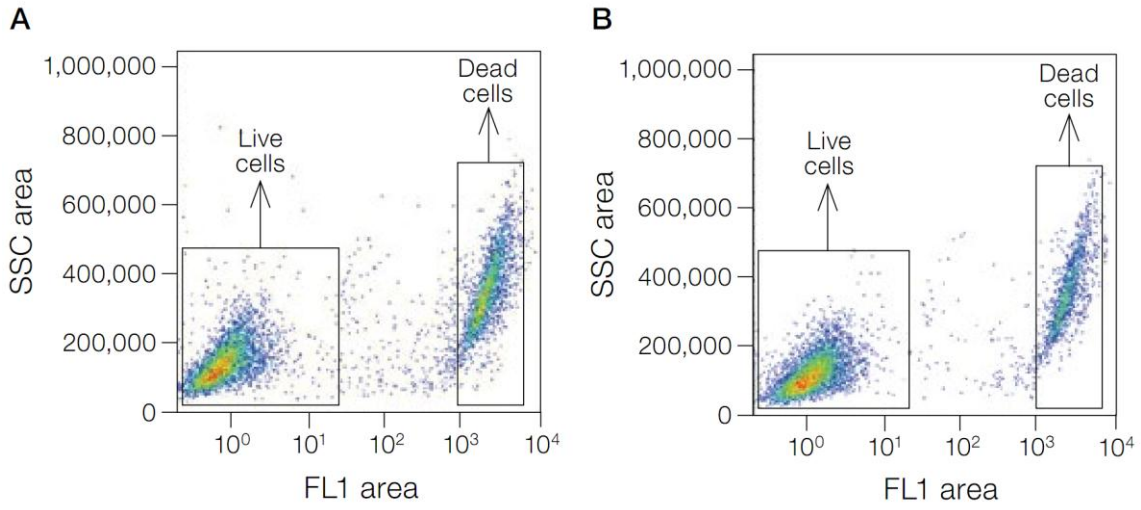


図 179　VivaFix 細胞生存率アッセイを使用した生細胞と死細胞の間で優れた分離。
Jurkat 細胞を固定し、VivaFix498/521 色素を用いて染色した 。(A)3.7%ホルムアルデヒドで固定した。(B)未固定サンプル。S3™セルソーターで分析した。 SSC は側方散乱光。

キット構成

キット構成品	数量	保存条件
VivaFix viability Dye	4 バイアル(50 回分/バイアル)	−20℃
DMSO	1 バイアル(250 μl)	−20℃

細胞固定可能な細胞生存率アッセイ

以下の表を使用して、サンプルに最適な VivaFixAssay を選択してください。

表 36 最適励起レーザー波長

カタログ番号	品名	最適励起レーザー nm	S3 488nm	S3 488/561nm	S3 488/640nm
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	405	-	-	-
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	405	-	-	-
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	405	-	-	-
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	405	-	-	-
135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay	488	FL1 (525/30)	FL1 (525/30)	FL1 (526/48)
135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay	561	-	FL2 (586/25)	-
135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay	561	-	FL3 (615/25)	-
135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay	640	-	-	FL3 (700LP)

アッセイプロトコール

重要: 使用前にすべてのバイアルを解凍してからご使用ください。

注意: リン酸緩衝生理食塩水（PBS）の代わりとしてアジ化ナトリウム、血清、タンパク質を含まないバッファーを使うことができます。

1. VivaFix Dye バイアルに DMSO 50 μl を加えて、ボルテックスミキサー等で良く混和し 500x のストック溶液を作成する。
2. サンプル細胞を PBS で洗浄し、2～3 x 10^6 cell/ml の濃度で PBS 中に再懸濁する。
3. 0.5ml cells/assay に対してステップ1で作成した 500x ストック溶液を 1 μl を加えてボルテックス等で混和する。
4. 遮光の上、室温で 30 分間もしくは 37℃/5% CO_2 インキュベーターでインキュベートする。

注意: 異なる細胞株に対する最適な色素濃度並びにインキュベーション時間は事前に評価をする必要があります。

5. 細胞を PBS で 2 回洗浄する。
6. 必要があれば細胞を固定化する。3.7%ホルムアルデヒドの場合:
   - ステップ5に続いて 900 μl の PBS で細胞を再懸濁する。
   - 細胞懸濁液に 100 μl の 37%ホルムアルデヒドを加えます。
   - 室温で 15 分インキュベートしてから、PBS で細胞を 2 回洗浄します。
7. フローサイトメトリー用分析バッファー中に細胞を再懸濁する。
8. S3 セルソーターもしくはフローサイトメーターで細胞を分析もしくはソーティングする。

CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit

カタログ番号	品名
135-1201	CFDA-SE Cell Proliferation Assay Kit

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

CFDA-SE（5[6] - カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル）細胞増殖アッセイは、100 μg バイアルに包装されています。DMSO を加えるだけで簡単に試薬調製ができるため、秤量の手間や試薬の無駄を省きます。

CFDA-SE は、細胞分裂を検出し、追跡するのに有用な細胞透過性試薬です。生細胞に入ると、CFDA-SE のアセテート基は細胞内のエステラーゼによって消化され、蛍光を発するカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル（CFSE）になります。 CFSE は、細胞内遊離第一級アミンと反応し安定した共有結合を形成し、細胞内に保持されます。細胞分裂時には CFSE の蛍光強度は連続的に世代ごとに半減するため、世代の識別をすることが可能になります。

化学的および物理的性質

分子量：557.46
CAS 番号：150347-59-4
最大励起：492 nm
発光最大：517 nm

CFDA-SE の励起/蛍光波長は、図 **180** を参照してください。

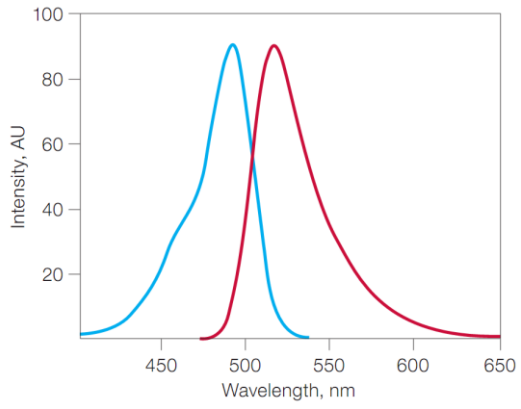


図 180　CFDA-SE の 0.1M NaOH 中の最大励起/蛍光波長は 492 /517nm である。励起波長（ - ）;発光波長（ - ）。 AU、吸光度単位。

キットの内容と保管

キット構成品の保存条件は表 **37** キット構成品と保存条件の条件に従ってください。

表 37 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量	保存温度
CFDA-SE	5 バイアル（各バイアル当たり 100 μg）	-20℃ 遮光し、湿気を避け保存すること。

アッセイプロトコール

重要:使用前にすべての構成品を解凍すること。

注:以下のプロトコールはガイドラインであり、各実験の必要に応じて修正する必要があります。

1. CFDA-SE バイアルに DMSO を 892.5 μL を加え、ボルテックスで混和して 200 μM のストック溶液を調製します。
2. ステップ 1 で調製したストック溶液を pH7 に調整されたバッファーで希釈し(表 **38**)、作業溶液(5～0.5 μM)を調製します。
3. 作業溶液 500 μl に 1×10^6 個の目的細胞を再懸濁します。
4. 室温で 5～20 分間遮光してインキュベートします。
5. サンプルを遠心分離し、上清を除去します。
6. ストック溶液を希釈したものと同じバッファー3ml で細胞ペレットを洗浄します。
7. あらかじめ温めておいた新しい培地 500 μl 中に細胞を再懸濁します。
8. ゼロ時間の分析するために 200 μL を 5ml チューブに移します。
9. 細胞増殖に適した条件で残りの細胞を培養します。
10. 細胞を回収し、必要に応じて他のマーカーで染色します。
11. サイトメーターまたは S3™ セルソーターの 488nm レーザーを用いて細胞の分析や、ソーティングを行います。

表 38 CFDA-SE 作業溶液の調製

希釈率	保存容量 μl	バッファー容量 μl	最終容量 ml	作業溶液濃度 μm
1:40	25	975	1	5
1:50	20	980	1	4
1:67	15	985	1	3
1:100	10	990	1	2
1:200	5	995	1	1
1:400	2.5	997.5	1	0.5

関連製品

CytoTrack™ 細 Cell Proliferation Assay Kits は簡単にマルチカラーの細胞分析をするために 4 つの異なる色をご提供しています:　青、緑、黄、赤。
現在ご使用の染色パネルに簡単に細胞トラッキング色素を組み込むことができます。細胞標識に最適な CytoTrack キットを選択するには、表 39をご覧ください。

表 39 CytoTrack Cell Proliferation Assay Kits の Ordering Inforamtion

カタログ番号	品名	最適励起レーザー波長
135-1202	CytoTrack Blue 403/454	405
135-1203	CytoTrack Green 511/525	488
135-1204	CytoTrack Yellow 542/556	532
135-1205	CytoTrack Red 628/643	632,640

より詳細な情報は以下の URL をご参照ください。
www.bio-rad.com/cfdase

CytoTrack™ Proliferation Assay Kit

カタログ番号	品名
135-1202～135-1205	CytoTrack Cell Proliferation Assay Kit

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

CytoTrack™ Cell Proliferation Assay Kit（細胞増殖アッセイキット）は、簡単にマルチカラー細胞分析に組み込めるように 4 つの異なった色素（青、緑、黄、赤）をご用意しています。
CytoTrack 色素の独自の化学的性質は、最大 10 世代の細胞分裂の検出を可能にします。各色素は、細胞透過性があり、蛍光物質、蛍光ブロッカー、および細胞保持基で構成されています。色素が生細胞に入ると、蛍光ブロッカーは、細胞内エステラーゼによって消化され、蛍光体の細胞保持基は、安定した共有結合（図 181）を形成するために細胞内タンパク質と反応します。細胞分裂すると蛍光強度が半減するので、各細胞分裂の世代を同定することができます。

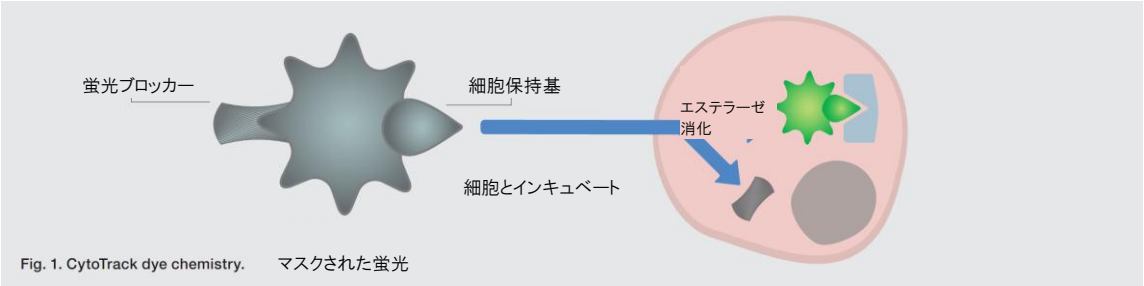


図 181　CytoTrack 色素の反応図

キットの内容と保管

キット構成品の保管条件については表 40 のガイドラインに従ってください。

表 40 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量	保存温度
CytoTrack 色素	4 バイアル 50回分/バイアル	-20℃ 遮光で保存のこと。
DMSO	1 バイアル（250 μl）	-20℃

CytoTrack Cell Proliferation Assay Kit

細胞標識に最適な CytoTrack キットを選択するには、表 41 をご覧ください。

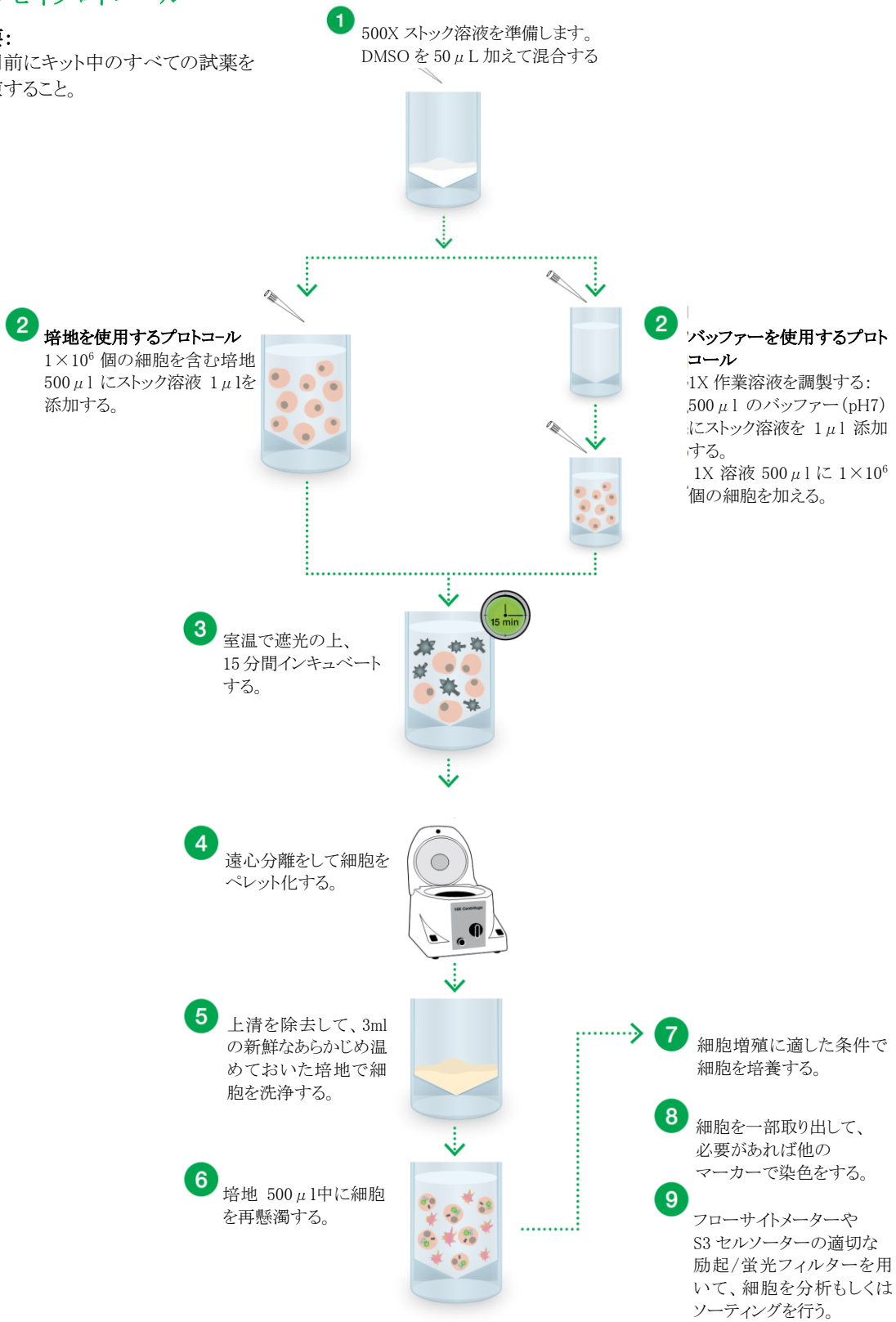
表 41 CytoTrack Cell Proliferation Assay Kit

カタログ番号	品名	最適励起レーザー波長
135-1202	CytoTrack Blue 403/454	405
135-1203	CytoTrack Green 511/525	488
135-1204	CytoTrack Yellow 542/556	532
135-1205	CytoTrack Red 628/643	632,640

より詳細な情報は以下の URL をご参照ください。
www.bio-rad.com/cytotrack

アッセイプロトコール

重要:
使用前にキット中のすべての試薬を解凍すること。



ReadiLink Antibody Labeling Kit

カタログ番号	品名
135-1001～135-1010	ReadiLink　Antibody Labeling Kit

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

バイオ･ラッドの ReadiLink 抗体標識キットは、マイクロボリューム(50～100μg の)のための簡単な抗体蛍光標識を提供します。精製工程を必要と(図 **182**)することなく、簡単な2ステップで抗体を蛍光標識します。

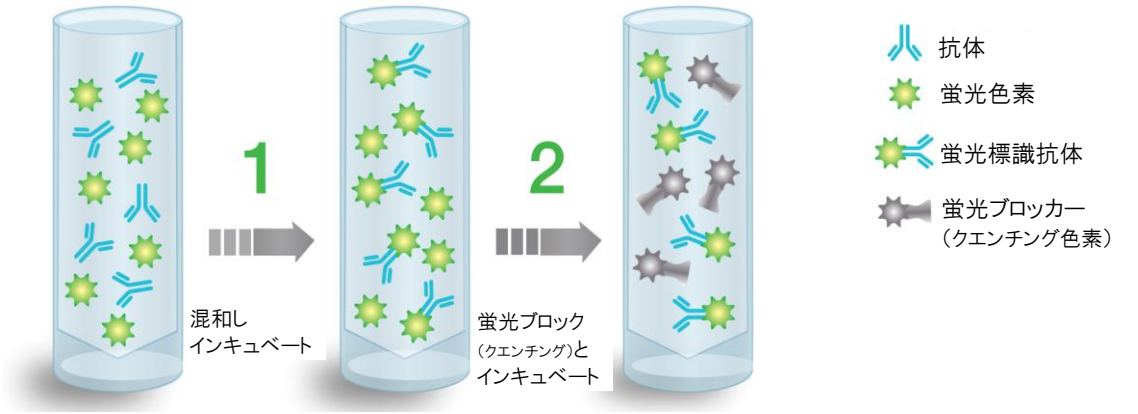


図 182　簡単 2 ステップで効率的に抗体を蛍光標識

各 ReadiLink 色素には反応性色素(スクシンイミジルエステル - 蛍光物質)が含まれています。反応性色素は蛍光物質と抗体が解離しないように安定したカルボキサミド結合を形成するタンパク質の第一級アミンに選択的に結合します。抗体標識後に蛍光ブロッカーバッファー(Quencher Buffer)を加えると ReadiLink 色素は蛍光ブロッカーと結合して、非蛍光状態になります。

ReadiLink Antibody Labeling kit には 2 反応分の(2×50μg タンパク質)構成品が含まれています。キットは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、または他のタンパク質(10kD 以上)を標識することができます。

キットの構成内容と保管

キット構成品の保存条件は表 **42** のガイドラインに従ってください。

表 42 キット構成品と保存条件

キット構成品	数量	保存温度
ReadiLink 色素 (ReadiLink labeling dye)	2 バイアル **注意**:50μg の抗体を標識するために1バイアルを使用します。	−20℃
反応バッファー (Reaction buffer)	1 バイアル(20μl)	−20℃
蛍光ブロッカーバッファー(Quench buffer)	1 バイアル(20μl)	−20℃

50μg の抗体を標識するプロトコール

重要:使用前に全てのキット構成品を解凍してください。

注:目的の抗体をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)pH7.2～7.4 に懸濁するか、又は溶液中の遊離アミンまたはアンモニウム塩を除去するために標識前に PBS で透析をする必要があります。

注:キットの使用に最適な抗体濃度は、1 mg / ml です。異なる濃度の抗体を使用した場合、蛍光標識が不十分になる可能性があります。

1. 目的抗体を 1 mg / ml 濃度になるように PBS 中に再懸濁します。
2. ステップ 1 の抗体溶液 50μl に反応バッファー(Reaction buffer)溶液 5μL を加える。
3. 数回ピペッティングしてよく混ぜる。
4. ReadiLink 色素(ReadiLink labeling dye)の 1 バイアルに抗体溶液全量(55μl)を添加し、ピペッティングにより混和する。
5. 室温で 60 分間インキュベートする。
6. 反応混合溶液に蛍光ブロッカーバッファー(Quench buffer)を 5μl を添加する。
7. 室温で 10 分間インキュベートする。
8. 蛍光標識された抗体の完成。

ReadiLink 抗体標識キットの励起および蛍光波長

抗体の蛍光標識に適切な ReadiLink キットを選択するには、表 **43** をご参照ください。

表 43　ReadiLink 抗体標識キット

カタログ番号	品名	最大励起波長 nm	最大蛍光波長 nm
135-1001	ReadiLink 350/440	350	440
135-1002	ReadiLink 492/516	492	516
135-1003	ReadiLink 555/570	555	570
135-1004	ReadiLink 594/610	594	610
135-1005	ReadiLink 633/655	633	655
135-1006	ReadiLink 647/674	647	674
135-1007	ReadiLink 680/701	680	701
135-1008	ReadiLink 700/713	700	713
135-1009	ReadiLink 750/779	750	779
135-1010	ReadiLink 790/811	790	811
135-1011	ReadiLink 405/454	403	454
135-1012	ReadiLink 405/508	414	508
135-1013	ReadiLink 405/537	405	537

より詳細な情報は以下の URL をご参照ください。

www.bio-rad.com/readilink

Appendix

Appendix 1: 参考資料(References)

フローサイトメトリーやバイオハザード対策用キャビネットとそのアプリケーションについての参考資料等は以下をご参照ください。

種別	資料名	出版社/著者/出版年	URL/ISBN
フローサイトメトリー			
書籍	Practical Flow Cytometry: Fourth Edition	John Wiley & Sons/ Shapiro HM /2003 年	ISBN978-0-471-41125-3
Web(PDF)	Cytometry: Part A; Journal of the International Society for the Advancement of Cytometry.		http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/%28ISSN%291552-4930
Web	サイトメトリー、共焦点顕微鏡の教育と研究教材、再メトリーemail アーカイブ、サイトメトリーメーカーへのリンク集	パデュー大学 サイトメトリー研究室	http://www.cyto.purdue.edu/
書籍	直伝! フローサイトメトリー 面白いほど使いこなせる!(実験医学別冊 最強のステップ UP シリーズ)	羊土社/中内啓光監修、清田純編集/2014 年	ISBN978-4-7581-0188-2 C3047
書籍	スタンダード フローサイトメトリー	医歯薬出版株式会社/日本サイトメトリー技術者認定協議会/2009 年	ISBN978-4-263-22168-6 C3047
書籍	フローサイトメトリーを用いた造血器腫瘍の診断	医薬ジャーナル/室井一男、小澤敬也編集/2006 年	ISBN4-7532-2216-0 C3047
書籍	応用サイトメトリー	医学書院/天神美夫監修/2000 年	ISBN4-260-10997-9 C3047
バイオセーフティーガイドライン			
Web(PDF)	WHO Laboratory Biosafety Manual - Third Edition	世界保健機関(WHO)	http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/
Web(PDF)	WHO 実験室バイオセーフティ指針 3 版	世界保健機関(WHO)/バイオメディカルサイエンス研究会 訳/2004 年	http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3_j.pdf?ua=1
Web(PDF)	Biorisk management:Laboratory biosecurity guidance	世界保健機関(WHO)	http://www.who.int/ihr/biosafety/publications_WHO_CDS_EPR_2006_6/en/
Web(PDF)	バイオリスクマネジメント 実験施設セキュリティガイダンス	世界保健機関(WHO)/国立感染症研究所訳	http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_EPR_2006.6_jpn.pdf
Web(PDF)	Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)-5th Edition	米国保健福祉省公衆衛生局 米国疾病対策予防センター(CDC) 米国国立衛生研究所(NIH)	http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/
Web(PDF)	International Society for the Advancement of Cytometry Cell Sorter Biosafety Standards	Holmes et al., Cytometry Part A J Int Soc Anal Cytol 2014;85A:434-453	http://isac-net.org/PDFS/d2/d2a43c32-5f89-44d7-adf6-c137d38f81b1.pdf
Web(PDF)	International Society for Analytical Cytology Biosafety Standard for Sorting of Unifixed Cells	Schmid et al., Cytometry Part A J Int Soc Anal Cytol 2007;71A:414-437	http://www.mcmaster.ca/biosafety/documents/doc027_ISAC_biosafety_standard_2007.pdf
Web(PDF)	国立感染症研究所 病原体等安全管理規程	国立感染症研究所 バイオリスク管理委員会	http://www0.nih.go.jp/niid/Biosafety/kanrikitei3/Kanrikitei3_1006.pdf
Web(PDF)	国立感染症研究所 病原体等安全管理規程 別冊1 「病原体等の BSL 分類等」	国立感染症研究所	http://www0.nih.go.jp/niid/Biosafety/kanrikitei3/Kanrikitei3_1006_1.pdf
バイオセーフティーガイドライン関連リンク			
Web	Biosafety Guidelines and Links to Information on the Internet (リンク集)	ISAC:International Society for Advancement of Cytometry	http://isac-net.org/Resources-for-Cytometrists/Biosafety.aspx
Web	国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室(リンク集)	国立感染症研究所	http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-biosafe.html
Web	ガイドライン等(リンク集)	日本バイオセーフティ学会	http://www.microbiology.co.jp/jbsa/guideline.html

■Appendix

種別	資料名	出版社/著者/出版年	URL/ISBN
バイオセーフティ関連法令			
Web(PDF)	感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律(感染症法)	厚生労働省	http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/pdf/03-03.pdf
Web(PDF)	感染症の要望及び感染症の患者に対する医療に関する法律施行規則(平成十年校正省令第九十九号)	厚生労働省	http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/pdf/03-11.pdf
-	遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)		
法令関連資料			
Web(PDF)	感染症法に基づく特定病原体等の管理規制について	厚生労働省	http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou17/03.html
Web(PDF)	ライフサイエンスにおける安全に関する取組　遺伝子組換え実験	文部科学省	http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html
Web(PDF)	カルタヘナ法説明書(ライフサイエンスの広場)	文部科学省	http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/carta_expla.html
Web(PDF)	拡散防止措置チェックリスト	文部科学省研究振興局ライフサイエンス課生命倫理・安全対策室	http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/data/anzen/kakusan_list.pdf
Web	バイオセーフティクリアリングハウス(J-BCH)	環境省	http://www.bch.biodic.go.jp/
Web(PDF)	ご存知ですか？カルタヘナ法　遺伝子組換え生物の適正な使用による生物の多様性の確保への取組み	環境省　自然環境局　野生生物課　外来生物対策室	http://www.bch.biodic.go.jp/cartagena/images/cartagena.pdf
Web(PDF)	カルタヘナ法ガイドブック	財団法人バイオインダストリー協会	http://www.jba.or.jp/pc/archive/pdf/H18_8_karutahena.pdf
バイオハザード対策用キャビネット(BioSafety Cabinetry)			
Web(PDF)	BMBL-Appendix A - Primary Containment for Biohazards:Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets	米国保健福祉省公衆衛生局 米国疾病対策予防センター(CDC) 米国国立衛生研究所(NIH)	http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/BMBL5_appendixA.pdf
Web(PDF)	International Society for the Advancement of Cytometry Cell Sorter Biosafety Standards	Holmes et al., Cytometry Part A J Int Soc Anal Cytol 2014;85A:434-453	http://isac-net.org/PDFS/d2/d2a43c32-5f89-44d7-adf6-c137d38f81b1.pdf
Web(PDF)	WHO Laboratory Biosafety Manual - Third Edition	世界保健機構(WHO)	http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/
Web(PDF)	NSF/ANSI 49-2008	米国科学財団(NSF) 米国規格協会(ANSI)	http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/3604/NSF_49-08e-rep-watermarked.pdf
書籍	日本工業規格　バイオハザード対策用クラスⅡキャビネット　(JIS K 3800)	一般社団法人日本規格協会(JSA) 公益社団法人日本空気清浄協会(JACA)	http://www.jsa.or.jp/default.asp http://www.jaca-1963.or.jp/

Appendix 2: S3 セルソーター仕様

以下に S3 セルソーターシステムの仕様を記載します。

表 44　S3 セルソーター仕様

分類	項目	性能
システム性能	分析速度	100,000イベント/秒
	分取速度	30,000イベント/秒
	分取純度	99%以上
	検出感度	125 MESF以下 for FITC and PE
	温度制御機能	サンプルポートとコレクションポートを4～37℃温度制御
光学系	第一レーザー	488nm 100mW
	オプションレーザー	561nm 100mW
	オプションレーザー	640nm 100mW
	検出器	前方散乱光（FSC）：PMT 側方散乱光（SSC）：PMT 4蛍光検出：PMT
流路系	ノズル	100μl固定
	シース圧力	30psi固定
	シース液	8xシース液を内蔵ボトルで自動希釈もしくは1xシース液を直接（無希釈）使用
	自動化機能	自動光軸調整 自動ドロップディレイ計算 液滴モニター機能 自動光学系調整
ソーティング系	ソーティング方向	2方向
	ソートモード	Single/Purity/Enrich
	コレクションチューブ	1方向に5本までの5mlもしくは1.5mlチューブ スライドガラス 8連ストリップ（平底）
ソフトウェア	制御・解析プログラム	ProSortソフトウェア
コンピューター	コンピューター仕様	CPU:Quad Core i5 RAM:16GB HDD:250GB OS:Windows7 Pro 64bit
	モニター仕様	24インチ液晶モニター　1920x1080解像度
筐体等	本体サイズ（WxDxH）	70x65x65cm （本体のみ）
	重量	90kg （本体のみ）
	入力電源	単相2線　90-115V　50-60Hz
	動作温度	18～25℃（±2℃以内で安定であること）
	動作湿度	20～70%（但し結露のないこと）
	動作音	60 dBA以下
追加オプション	Biosafetyキャビネット	S3 BioSafetyシステム Class I
適合法規	電源	Electrical Safety for Europe,IEC 61010-1 CB Scheme UL/CSA Standard for Safety Electrical Equipment for Electrical Safety (USA, Canada, NRTL) IEC61010-2-081, EN 61010-2-081,EN/IEC 60825-1, EMC EN 61326-1 ,CE Declaration of Certification
	レーザー	Class I (1) laser product per CDRH regulations and EN/IEC 60825-1

Appendix 3: Ordering Information

表 45 S3/S3e セルソーター Ordering Information

カタログ番号	品名
システム	
145-1001J1	S3™セルソーター 488nmレーザー 2蛍光検出システム
145-1002J1	S3™セルソーター 488/561nmレーザー 4蛍光検出システム
145-1003J1	S3™セルソーター 488nmレーザー 4蛍光検出システム
145-1004J1	S3™セルソーター 488/640nmレーザー 4蛍光検出システム
145-1005J1	S3e™セルソーター 488nmレーザー 2蛍光検出システム
145-1006J1	S3e™セルソーター 488/561nmレーザー 4蛍光検出システム
145-1008J1	S3e™セルソーター 488/640nmレーザー 4蛍光検出システム
145-1078	S3 Biosafety システム Class I
消耗品	
145-1081	ProLine™ キャリブレーションビーズ (15ml:5ml x 3本)
145-1086	ProLine™ Universal キャリブレーションビーズ (15ml:5ml x 3本)
145-1082	ProFlow™ 8xシース液 (20L:4L x 5個)
145-1083	ProFlow™ Sorting grade water (20L:4L x 5個)滅菌済
145-1085	ProLine™ Rainbowビーズ (5ml x 1本)
アクセサリー	
145-1065	S3™セルソーター アクセサリーキット
145-1084	S3用送液タンク(4L x 3個) γ線滅菌済
144-1001	S3用シースタンクキャップアッセンブリー(白)
144-1002	S3 用 DI タンクキャップアッセンブリー(青)
144-1003	S3 廃液タンクキャップアッセンブリー(赤)
144-1005	S3 フィルターブロック A(ブランク)
144-1006	S3 フィルターブロック B(ブランク)
144-1007	S3 フィルターホルダー
144-1008	S3 Neutral Density Filter 1.0
144-1009	S3 ノズルチップ 100 μm
144-1010	S3 ノズルチップ用 O-リング(アライメントディスク付)
144-1011	S3 コレクションアダプター
144-1012	S3 2mm 六角レンチ
144-1013	S3 フィルターホルダー

Appendix 4: ProSort ソフトウェア インストール方法

ProSort ソフトウェアは S3 セルソーターを制御しているコンピューターの他にデータ分析用として別のコンピューターへインストールして使用することができます。
本項では解析用として、ProSort ソフトウェアをコンピューターにインストールする方法を記載します。
ProSort ソフトウェアをインストールするの推奨コンピューター仕様は以下（表 **46**）をご参照ください。

表 46 ProSort ソフトウェアの推奨コンピューター仕様

項目	推奨仕様
OS	Windows 7 Professional (64bit*1) 英語版
CPU	Intel Core i5 3.2GHz以上
RAM	16GB(*2)
HDD	250GB以上
ポート	USBポート
画面サイズ	24インチ
画面解像度	1920 x 1080 ピクセル以上(*3)
表示色数	16,700,000
ソフトウェア環境	ProSortソフトウェアインスールする前に以下のソフトウェアがインストールされていることが必要です。 ■ Microsoft .Net Fremework 4以上 ■ Microsoft SQL Server Compact

*1:32bit の OS でも動作しますが、64bit よりも安定性が悪いため、64bit OS を推奨致します。
*2:メモリー使用量は ProSort で開くファイル数やデータのサイズに依存します。ソーティングデータなど（500 万イベントなど）大量データですと動作が遅くなります。データ保存前にファイルメニューから「Save Partial FCS File」でイベント数を削減した FCS ファイルを保存して、このファイルを解析等に利用することを推奨いたします。
*3:1920 x 1080 ピクセル以下の解像度ではツールバー上のボタンが表示されないことがあります。

ソフトウェアのインストール

ProSort ソフトウェア動作には Microsoft .NET Framework4 以上と Microsoft SQL Server Compact の2つのファイルがインストールされていることが必要です。

1. マイクロソフトのホームページより2つのファイルをダウンロードします（表 **47**）。

表 47 ProSort ソフトウェアインストールに必要なファイル

ファイル	ファイル名	URL
Microsoft .Net Framework4	dotNetFx40_Full_setup.exe	http://www.microsoft.com/en-US/download/details.aspx?id=17718
Microsoft SQL Server Compact	64bit OS: SSCERuntime_x64-ENU.exe 32bit OS: SSCERuntime_x84-ENU.exe	http://www.microsoft.com/en-US/download/details.aspx?id=17876

2. Microsoft .Net Framework4 をインストールします。

注意: 古いバージョンの.NET Framework がコンピューターにインストールされていた場合には、バージョンによって上手く上書きインストールされない場合があります。その場合には、**コントロールパネル＞プログラムと機能**で古い.NET Framework をアンインストールしてから、.NET Framework4 をインストールしてください。

3. Microsoft SQL Server Compact をインストールします。このファイルはご使用の OS により2つの種類があります。32 bit(x86)と 64bit(x64)かはご使用の OS にあわせて、インストールしてください。
4. 本体付属の USB メモリーをコンピューターに挿し ProSort フォルダをコンピューターの C ドライブ直下にコピーします。
5. C ドライブ内の ProSort フォルダにある ProSort.exe のショートカットをデスクトップに作成します。以上、でインストール作業は終了です。

Appendix 5: 修理依頼書

修理依頼書にご記入(*は必ずご記入ください)の上、修理品に添付してお送りください。
(修理品 1 台につき 1 枚ご記入ください)

***依頼日　　年　　月　　日**

【*法人名(エンドユーザー様】	
【*ご住所】	
【*ご担当者様名】	【ご連絡先】 (TEL)

【*代理店様名】	
【*ご住所】	
【*ご連絡先】 (TEL)	【*ご担当者】

【*製品名】	【製造番号(S/N)】	【*付属品】
【*故障状況】		
【*修理条件】 □保証期間中修理です。(保証期間　　年　　月　　日) □作業前に見積は必要ありません。修理をお願い致します。 □修理金額(¥　　)以下の場合、見積りは必要ありません。修理をお願いします。 □作業前に見積が必要です。(故障箇所特定後の見積提出は、見積作業料を頂きます)		
【その他/備考欄】 【注意事項】 お客様よりお預かりします機器に対し、細心の注意を払い作業を行いますが、プロトコールやデータは、不可抗力で消失する場合や作業の都合上で消去せざるを得ない場合があります。お客様で作成されましたプロトコールやデータに関して、修理をご依頼される前に必ずバックアップを行なってください。それらに関しては復旧できない場合がございますので予めご了解ください。 尚、弊社にてプロトコールやデータのバックアップ、リストア作業のご依頼は承っておりません。		

【連絡先】	電話番号	Fax 番号
東京サービスセンター	03-6404-0330	03-6404-0332
大阪営業所	06-6308-6568	06-6308-3064
リペアセンター	03-6404-0381	03-6404-0332

修理品発送前に、発送先のご確認をお願い致します。

Appendix 6: デコンタミネーション確認のお願い

バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社に修理機器及び修理代替機、デモ機器を返送される場合、当該機器が生物学的有害物質（感染性物質）及び化学的有害物質の汚染がないことをご確認いただき、下記へご記入・ご署名の上、機器に添付してご送付ください。訪問対応の場合は、作業を行う前に弊社エンジニアへお渡しください。
弊社販売店様及び弊社従業員の安全を確保するためでございますので、ご理解とご協力をよろしくお願いいたします。
尚、安全の確認がとれない場合には、サービスの提供ができない場合がございますので予めご了承ください。

製品名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿　Serial No.（製造番号）：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

1. 上記装置は、感染性のあるサンプルを使用されましたか？
□ はい（感染性のある物質名：　　）　□いいえ
1-1. 上記で“はい”とご回答いただいた方へ、そのサンプルが接触した部分を安全が保たれる状態まで洗浄されましたか？
□ はい　□いいえ
1-2. 上記 1-1 で“ はい ”とご回答いただいた方へ、具体的にどのような方法で洗浄されましたか？

---

2. 上記装置は、有害な化学物質または放射性物質のサンプルを使用されましたか？
□ はい（危険性のある物質名：　　）　□いいえ
2-1. 上記で“はい”とご回答いただいた方へ、そのサンプルが接触した部分を安全が保たれる状態まで洗浄、除染されましたか？
□ はい　□いいえ
2-2. 上記 2-1 で“ はい ”とご回答いただいた方へ、具体的にどのような方法で洗浄、除染されましたか？

デコンタミネーション確認書

上記の装置を人体及び環境の安全を保つため、人体への感染や危険が無い状態であることを確認し、バイオ・ラッド ラボラトリーズ社員または、代理人へ作業を依頼したことを承認します。

ご記入日：　　年　　月　　日　　ご署名：＿＿＿＿＿＿＿＿

会社(団体)名：＿＿＿＿＿＿＿＿　ご職位：＿＿＿＿＿＿＿＿

電話番号：＿＿＿＿＿＿＿＿

＊ご署名は、実際に当該装置をご使用し、安全を確保していただいた方にお願いいたします。

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
ライフサイエンス事業部

Visit us at http://www.bio-rad.com

本社	〒140-0002	東京都品川区東品川 2-2-24	Tel：03-6361-7000	Fax：03-5463-8480
大阪	〒532-0025	大阪市淀川区新北野 1-14-11	Tel：06-6308-6568	Fax：06-6308-3064
福岡	〒812-0013	福岡市博多区博多駅東 2-5-28	Tel：092-475-4856	Fax：092-474-5580

製品の学術的なお問い合わせは

Mail：life_ps_jp@bio-rad.com Tel：03-6404-0331 Fax：03-6404-0334

MNL1451001 M10626 1502B